



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Evaluación de la actividad antiproliferativa,  
antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto  
metanólico de hojas de Piper aduncum, Buddleja  
incana y Dracontium spruceanum**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Productos  
Naturales y Biocomercio

**AUTOR**

Víctor Elmo MIRANDA GARCIA

**ASESOR**

Pablo Enrique BONILLA RIVERA

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Miranda V. Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto metanólico de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2019.

---



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

UNIDAD DE POSGRADO



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR  
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN PRODUCTOS NATURALES Y BIOCOMERCIO**

Siendo las **11:00 hrs. del 15 de abril de 2019** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado de tesis, presidido por el Dr. Américo Jorge Castro Luna e integrado por los siguientes miembros: Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (Asesor), Dr. José Amiel Pérez y Mg. Bertran Santiago Trujillo; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *piper aduncum*, *buddleja incana* y *dracontium spruceanum*"**, presentado por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica **VÍCTOR ELMO MIRANDA GARCÍA**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Productos Naturales y Biocomercio**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado de sustentación de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

**20 (VEINTE) EXCELENTE)**

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Farmacia y Bioquímica **VÍCTOR ELMO MIRANDA GARCÍA**, el Grado Académico de Magíster en **Productos Naturales y Biocomercio**.

Siendo las ..... hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las ..... hrs. del 15 de abril de 2019

Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P., D.E.)  
Presidente

Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (P.P., T.C.)  
Miembro - Asesor

Dr. José Amiel Pérez  
Miembro

Mg. Bertran Santiago Trujillo (P. Aux., T.P.)  
Miembro

Observaciones:



Dedico este trabajo a mi señora madre y señor padre, Amelia y Elmo por su apoyo a lo largo de toda mi vida, hasta este punto de mi formación, el cual es producto de sus enseñanzas, valores y motivación inculcados, a mis hermanos Julio, Carmen y Renato, a mi esposa e hijo Liz y Leonidas, a la familia que tengo y a la que estoy formando.

Agradezco a FONDECYT – CONCYTEC por el financiamiento de este trabajo circunscrito al proyecto de investigación “Evaluación del efecto de extractos y fracciones de tres plantas medicinales sobre células madre de cáncer gástrico”, mediante el convenio 134-2017 firmado con la Universidad Científica del Sur, al Dr. Amiel por considerarme como tesista dentro de su proyecto de investigación y todo el apoyo brindado en este camino, a todo el equipo de trabajo del Instituto de Medicina Regenerativa de la Universidad Científica del Sur, entre ellos al profesor Fukusaki quien colaboró grandemente en este trabajo, a los jóvenes investigadores del área de cultivo celular, Ana, el Dr. Marcelo y Salyoc, Santiago y a mi joven asistente Luis, a la Sra. Laura que se encargó de la parte administrativa del proyecto y sobre todo a mi Asesor de Tesis, Dr. Pablo Enrique Bonilla por la orientación en el desarrollo de este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINAS
LISTA DE TABLAS .....	I
LISTA DE FIGURAS .....	II
RESUMEN .....	III
SUMMARY .....	III
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Situación problemática .....	1
1.2 Formulación del problema .....	2
1.3 Justificación teórica .....	2
1.4 Justificación práctica.....	3
1.5 Objetivos .....	3
1.5.1 Objetivo general .....	3
1.5.2 Objetivos específicos.....	3
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO .....	4
2.1 Marco filosófico o epistemológico de la investigación .....	4
2.2 Antecedentes de investigación .....	6
2.3 Bases teóricas.....	10
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA .....	15
3.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	15
3.1.1 Ubicación geográfica de colecta .....	15
3.1.2 Población de estudio .....	19
3.1.3 Tamaño de muestra.....	20
3.1.4 Selección de muestra .....	20
3.2 Obtención de los extractos y fracciones .....	20
3.3 Análisis fitoquímico.....	22

3.3.1 Tamizaje fitoquímico.....	22
3.3.2 Ensayo de solubilidad.....	26
3.3.3 Ensayos de cromatografía en capa fina .....	26
3.4 Determinación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i> .....	26
3.4.1 Método DPPH• (2,2-difenil-1-picrililhidracilo).....	26
3.4.2 Mét. ABTS•+(ác 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) .....	28
3.5 Determinación de la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> .....	29
3.6 Determinación de la actividad antiproliferativa <i>in vitro</i> .....	32
3.7 Análisis de la relación entre la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa .....	35
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	36
4.1 Presentación, análisis, interpretación y discusión de resultados .....	36
4.1.1 Análisis y discusión de los resultados de la extracción .....	36
4.1.2 Análisis y discusión del análisis fitoquímico.....	39
4.1.3 Análisis y discusión de los resultados de actividad antioxidante.....	51
4.1.4 Análisis y discusión de resultados de la prueba antiinflamatoria .....	90
4.1.5 Análisis y discusión de result. de la prueba antiproliferativa.....	103
4.2 Pruebas de hipótesis.....	133
4.2.1 Análisis del supuesto de normalidad para los datos .....	1399
4.2.2 Análisis de correlación.....	1411
4.2.3 Regresión lineal.....	147
CONCLUSIONES .....	148
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	150
ANEXOS .....	161

## LISTA DE TABLAS

I

- Tabla 1.** Procedimiento para pruebas fitoquímicas (Lock, 1994)
- Tabla 2.** Diseño de preparación de soluciones para medir actividad antioxidante por DPPH
- Tabla 3.** Diseño de preparación de soluciones para medir actividad antiinflamatoria
- Tabla 4.** Rendimiento de la extracción metanólica a partir de las muestras secas
- Tabla 5.** Porcentaje de las fracciones con respecto al extracto original.
- Tabla 6.** Rendimiento de las fracciones
- Tabla 7.** Análisis fitoquímico de la fracción “A”
- Tabla 8.** Análisis fitoquímico de la fracción “B”
- Tabla 9.** Análisis fitoquímico de la fracción “C”
- Tabla 10.** Análisis fitoquímico de la fracción “D”
- Tabla 11.** Análisis fitoquímico de la Fracción “E”
- Tabla 12.** Prueba de la espuma en extracto acuoso
- Tabla 13.** Resumen de las pruebas cualitativas de metabolitos secundarios
- Tabla 14.** Criterios para descripción de la solubilidad de extractos.
- Tabla 15.** Solubilidades de los extractos metanólicos secos.
- Tabla 16.** Solubilidad de fracciones en solventes apolares
- Tabla 17.** Solubilidad de fracciones en solventes polares
- Tabla 18.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Buddleja incana* y sus fracciones
- Tabla 19.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Piper aduncum* y sus fracciones
- Tabla 20.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* hojas y sus fracciones

**Tabla 21.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* cormo y sus fracciones

**Tabla 22.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Buddleja incana* y sus fracciones

**Tabla 23.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Piper aduncum* y sus fracciones

**Tabla 24.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* y sus fracciones

**Tabla 25.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* y sus fracciones

**Tabla 26.** Capacidad Antioxidante Relativa al ácido ascórbico

**Tabla 27.** Capacidad Antioxidante relativa al trolox

**Tabla 28.** Relación de  $Ca_r$  de las muestras halladas por DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot$ .

**Tabla 29.** IC<sub>50</sub> ordenadas de menor a mayor según el método usado

**Tabla 30.** Porcentaje de actividad antiinflamatoria de los controles

**Tabla 31.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Buddleja incana* y sus fracciones

**Tabla 32.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Piper aduncum* y sus fracciones

**Tabla 33.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Dracontium spruceanum* hojas y sus fracciones

**Tabla 34.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Dracontium spruceanum* cormo y sus fracciones

**Tabla 35.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Buddleja incana* evaluados a las 24 horas

**Tabla 36.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Buddleja incana* evaluados a las 48 horas

**Tabla 37.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Piper aduncum* evaluados a las 24 horas

**Tabla 38.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Piper aduncum* evaluados a las 48 horas

**Tabla 39.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de hojas de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 24 horas

**Tabla 40.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de hojas de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 48 horas

**Tabla 41.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de corno de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 24 horas

**Tabla 42.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de corno de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 48 horas

**Tabla 43.** Datos de *Buddleja incana* usados para hallar correlación

**Tabla 44.** Datos de *Piper aduncum* usados para hallar correlación

**Tabla 45.** Datos de Hojas de *Dracontium spruceanum* usados para hallar correlación

**Tabla 46.** Datos de Corno de *Dracontium spruceanum* usados para hallar correlación

**Tabla 47.** Test de normalidad para datos de *Buddleja incana*

**Tabla 48.** test de normalidad para datos de *Piper aduncum*

**Tabla 49.** Test de normalidad para datos de hojas de *Dracontium*

**Tabla 50.** Test de normalidad para datos de Corno de *Dracontium*

**Tabla 51.** Análisis de correlación de *Buddleja incana*

**Tabla 52.** Análisis de correlación del corno de *Dracontium* y sus fracciones

## LISTA DE FIGURAS

II

- Figura 1.** Ubicación geográfica de colecta del Jergón sachá
- Figura 2.** Coordenadas geográficas del sitio de colecta de jergón sachá
- Figura 3.** Corno de *Dracontium spruceanum*
- Figura 4.** Hojas de *Dracontium spruceanum*
- Figura 5.** Ubicación geográfica de colecta del *Piper aduncum*
- Figura 6.** Coordenadas geográficas del sitio de colecta de *Piper aduncum*
- Figura 7.** Hojas de *Piper aduncum*
- Figura 8.** Ubicación geográfica de colecta de *Buddleja incana*
- Figura 9.** Coordenadas geográficas del sitio de colecta de *Buddleja incana*
- Figura 10.** Hojas y flores de Quishuar
- Figura 11.** Extractos metanólicos
- Figura 12.** Esquema de obtención del extracto metanólico y fracciones
- Figura 13.** Diagrama de tamizaje fitoquímico
- Figura 14.** Solventes Universales
- Figura 15.** CCF con metanol
- Figura 16.** CCF con cloroformo
- Figura 17.** CCF con mezcla de solventes
- Figura 18.** CCF con mezcla de solventes y mejor resolución
- Figura 19.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Buddleja incana*
- Figura 20.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Buddleja incana*
- Figura 21.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Buddleja*
- Figura 22.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Buddleja*
- Figura 23.** Gráfica de regresión de la fracción remanente de *Buddleja*
- Figura 24.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Bi con sus fracciones
- Figura 25.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción a diferentes concentraciones.
- Figura 26.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para la *Buddleja incana*
- Figura 27.** IC<sub>50</sub> del ácido ascórbico
- Figura 28.** IC<sub>50</sub> del trolox
- Figura 29.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Piper aduncum*
- Figura 30.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Piper aduncum*



**Figura 31.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Piper aduncum*

**Figura 32.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Piper*

**Figura 33.** Gráfica de regresión de La fracción remanente de *Piper*

**Figura 34.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Pa con sus fracciones

**Figura 35.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Pa a diferentes concentraciones.

**Figura 36.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para el *Piper aduncum*

**Figura 42.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Dh con sus fracciones

**Figura 43.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción Dh a diferentes concentraciones.

**Figura 44.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para la *Dracontium spruceanum* hojas

**Figuras 45 – 49.** Gráficas de regresión para dracontium hojas y fracciones

**Figura 50.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Dc con sus fracciones

**Figura 51.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Dc a diferentes concentraciones.

**Figura 52.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del

**Figuras 53 – 57** Gráficas de regresión para cálculo de % antioxidante en Mo y fracciones en Bl

**Figura 58.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Bi con sus fracciones

**Figura 59.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Bi a diferentes concentraciones.

**Figura 60.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para la *Buddleja incana*

**Figura 61.** IC<sub>50</sub> del ácido ascórbico con ABTS•<sup>-</sup>.

**Figura 62.** IC<sub>50</sub> del trolox con ABTS•<sup>+</sup>

**Figuras 63 – 67.** Gráficas de regresión para cálculo de % antioxidante en Mo y fracciones en Pa

**Figura 68.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Pa con sus fracciones

**Figura 69.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Pa a diferentes concentraciones.

**Figura 70.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones para el *Piper aduncum*

**Figuras 71 – 75.** Gráficas de regresión para cálculo de % antioxidante en Mo y fracciones en Dh

**Figura 76.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Dh con sus fracciones

**Figura 77.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Dh a diferentes concentraciones.

**Figura 78.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones para *Dracontium spruceanum* hojas

**Figuras 79 – 83.** Gráficas de regresión para cálculo de % antioxidante en Mo y fracciones en Dc

**Figura 84.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Dc con sus fracciones

**Figura 85.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Dc a diferentes concentraciones.

**Figura 86.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones para el *Dracontium spruceanum* cormo

**Figura 87.** Curva de regresión de los controles positivos en la prueba antiinflamatoria

**Figura 88.** IC<sub>50</sub> de la fracción acetato hexánica de *Buddleja incana*

**Figura 89.** IC<sub>50</sub> de la fracción de etilo de *Buddleja incana*

**Figura 90.** Porcentaje de protección de membrana de las fracciones de Bi

**Figuras 91 y 92.** comparaciones de las fracciones de Bi en la protección de membrana

**Figura 93 y 94.** IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de Pa y fracción hexánica en la protección de membrana

**Figura 95 y 96.** IC<sub>50</sub> de la fracción clorofórmica y de acetato de etilo de Pa en la protección de membrana

**Figura 99.** IC<sub>50</sub> de la fracción remanente de Pa en la protección de membrana

**Figura 100.** Comparación de las fracciones de *Piper aduncum*

**Figura 101 y 102.** IC<sub>50</sub> y distribución de datos de las muestras de *Pipiper aduncum*

**Figura 103 y 104.** IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de Dh y fracción clorofórmica

**Figura 105 y 106.** IC<sub>50</sub> de la fracción acetato etilo y remanente de Dh

**Figura 107.** Comparación de las fracciones de *Dracontium spruceanum* hojas

**Figura 108 y 109.** IC<sub>50</sub> y distribución de datos de las muestras de *Dracontium spruceanum* hojas

**Figura 110 y 111.** IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de Dc y fracción clorofórmica

**Figura 112 y 113.** IC<sub>50</sub> de la fracción acetato etilo y remanente de Dc

**Figura 114.** Comparación de las fracciones de *Dracontium spruceanum* cormo

**Figura 115 y 116.** IC<sub>50</sub> y distribución de datos de las muestras de *Dracontium spruceanum* cormo

**Figura 117.** IC<sub>50</sub> de Mo-Bi a 24 horas

**Figura 118.** IC<sub>50</sub> de Mo-Bi a 48 horas

**Figura 119.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Bi

**Figuras 120 y 121.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Hx-Bi a 24 y 48 horas

**Figura 122.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Bi

**Figuras 123 y 124.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Cl-Bi a 24 y 48 horas

**Figura 125.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Cl-Bi

**Figuras 126 y 127.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Ac-Bi a 24 y 48 horas

**Figura 128.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-Bi

**Figuras 129 y 130.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de M3-Bi a 24 y 48 horas

**Figura 131.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Bi

**Figura 132.** Variación de IC<sub>50</sub> Bi a 24 horas

**Figura 133.** Variación de IC<sub>50</sub> Bi a 48 horas

**Figura 134.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Bi 48 horas

**Figuras 135 y 136.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Mo-Pa a 24 y 48 horas

**Figura 137.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Pa

**Figuras 138 y 139.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Hx-Pa a 24 y 48 horas

**Figura 140.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Pa

**Figuras 141 y 142.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Cl-Pa a 24 y 48 horas

**Figura 143.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Cl-Pa

**Figuras 144 y 145.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Ac-Pa a 24 y 48 horas

**Figura 146.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-Pa

**Figuras 147 y 148.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de M3-Pa a 24 y 48 horas

**Figura 149.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Pa

**Figura 150.** Variación de IC<sub>50</sub> Pa a 24 horas

**Figura 151.** Variación de IC<sub>50</sub> Pa a 48 horas

**Figura 152.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Pa

**Figuras 153 y 154.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Mo-Dh a 24 y 48 horas

**Figura 155.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Dh

**Figuras 156 y 157.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Hx-Dh a 24 y 48 horas

**Figura 158.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Dh

**Figuras 159 y 160.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Cl-Dh a 24 y 48 horas

**Figura 161.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Cl-Dh

**Figuras 162 y 163.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Ac-Dh a 24 y 48 horas

**Figura 164.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-Dh

**Figuras 165 y 166.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de M3-Dh a 24 y 48 horas

**Figura 167.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Dh

**Figura 168.** Variación de IC<sub>50</sub> de citotoxicidad en Dh a 24 horas

**Figura 169.** Variación de IC<sub>50</sub> de citotoxicidad en Dh a 28 horas

**Figura 170.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Dh

**Figuras 171 y 172.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Mo-Dc a 24 y 48 horas

**Figura 173.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Dc

**Figuras 174 y 175.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Hx-Dc a 24 y 48 horas

**Figura 176.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Dc

**Figuras 177 y 178.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Cl-Dc a 24 y 48 horas

**Figura 179.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Cl-Dc

**Figuras 180 y 181.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de Ac-Dc a 24 y 48 horas

**Figura 182.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-DC

**Figuras 183 y 184.** IC<sub>50</sub> de citotoxicidad de M3-Dc a 24 y 48 horas

**Figura 185.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Dc

**Figura 186.** Variación de IC<sub>50</sub> de citotoxicidad en Dc a 24 horas

**Figura 187.** Variación de IC<sub>50</sub> de citotoxicidad en Dc a 48 horas

**Figura 188.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Dc

**Figura 189.** Gráficos de correlación de la *Buddleja* y sus fracciones

Se realizó un estudio experimental para determinar la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa *in vitro* sobre una línea celular de cáncer gástrico, de las hojas de *Buddleja incana*, *Piper aduncum* y *Dracontium spruceanum*, para ello se realizó una caracterización fitoquímica y se fraccionó con diferentes solventes según su popularidad, obteniendo un total de 5 muestras por cada planta. Se observó que *Buddleja incana* era la más potente en cuanto a efecto antioxidante, *Dracontium spruceanum* presentó más potencia en cuanto a actividad antiinflamatoria y antiproliferativa, además se pudo encontrar una correlación entre la actividad antioxidante de *Buddleja incana* y su acción citotóxica y entre la acción antiinflamatoria y la citotoxicidad para el caso *Dracontium spruceanum*.

**Palabras clave:** antioxidante, antiinflamatorio, citotoxicidad, antineoplásico, fraccionamiento de extractos vegetales

## SUMMARY

An experimental study was carried out to determine the antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activity *in vitro* on a gastric cancer cell line from the leaves of *Buddleja incana*, *Piper aduncum* and *Dracontium spruceanum*, for which a phytochemical characteristic was verified and fractionated with the best results. According to its population, obtaining a total of 5 samples per plant. it was observed that *Buddleja* was even more potent in terms of antioxidant effect, *Dracontium spruceanum* had more power in terms of anti-inflammatory and antiproliferative activity, besides being able to find a correlation between the antioxidant activity of *Buddleja incana* and its cytotoxic action and between the action anti-inflammatory and cytotoxicity for the case of *Dracontium spruceanum*.

**Key words:** antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxicity, antineoplastic, fractionation of plant extracts.



## **CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Situación problemática**

El cáncer es un problema de salud pública a escala mundial, pues así lo demuestran sus tasas de incidencia y mortalidad. En Latinoamérica el cáncer ocupa el tercer lugar de las causas de muerte y en el Perú, el Registro de Cáncer de Lima Metropolitana evidenció que las tasas de incidencia para todos los cánceres en hombres y mujeres han aumentado entre los periodos 1968-1970 y 2004-2005 de 152,2 a 174,0 por 100000 hombres y de 166,8 a 187,0 por 100 000 mujeres (INEM, 2016) En Perú el cáncer gástrico es una de las entidades más agresivas y frecuentes, representando el 14,7% de las causas de mortalidad por cáncer en varones (sólo detrás del cáncer de próstata) y 13,4% en mujeres, observándose mayor tasa de mortalidad en regiones de la Sierra, como Huánuco, Pasco y Cusco (Torres-Román & Grados-Sánchez, 2015) de tal modo que puede identificarse al cáncer de estómago como el de mayor incidencia para ambos sexos en común.

Es sabido que entre los tratamientos para esta enfermedad se encuentra la quimioterapia, tratamiento que deja efectos adversos muy tóxicos, por ello surge la necesidad de encontrar nuevos quimioterápicos de preferencia de origen natural, que puedan hacer frente a esta enfermedad.

Nuestro país al contar con una gran biodiversidad, incrementa la posibilidad de albergar algún recurso vegetal en cuyos metabolitos secundarios se pueda hallar un principio activo útil en el tratamiento del cáncer de estómago, sin embargo, la capacidad de investigación peruana en este campo no es suficiente para abarcar tal biodiversidad, es por ello que se hace necesario seguir buscando en nuestros recursos vegetales teniendo como base el saber tradicional y estudios científicos previos relacionados al tema.

## 1.2 Formulación del problema

### General:

¿El extracto metanólico de hojas de *Pipper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* tendrá efecto antiproliferativo, antioxidante y antiinflamatorio *in vitro*?

### Específicos:

1. ¿Qué tipos de metabolitos estarán presentes en el extracto metanólico de las hojas de *Pipper aduncum*, *Buddleja incana* y hojas y cormo de *Dracontium spruceanum*?
2. ¿El extracto metanólico y sus fracciones de hojas de *Pipper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* tendrán actividad antioxidante *in vitro*?
3. ¿El extracto metanólico y sus fracciones de hojas de *Pipper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* tendrán actividad antiinflamatoria *in vitro*?
4. ¿El extracto metanólico y sus fracciones de hojas de *Pipper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* tendrán efecto antiproliferativo sobre una línea celular de cáncer gástrico?
5. ¿Cuál será la relación entre la actividad antioxidante e antiinflamatoria *in vitro* del extracto metanólico y sus fracciones de hojas de *Pipper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* con el efecto antiproliferativo sobre una línea celular de cáncer gástrico?

## 1.3 Justificación teórica

De encontrar sustancias bioactivas presentes en las plantas en estudio con eficacia moderada contra las células de cáncer, se podría dar sustento científico al uso de las mismas como tratamiento coadyuvante, o según su grado de eficacia, como tratamiento alternativo de la quimioterapia, además de sentar las bases para posteriores estudios que tengan como objetivo la identificación de la molécula específica o fitocomplejo con el mejor efecto antiproliferativo y aislarlo para poder diseñar nuevos quimioterápicos de origen natural.

## 1.4 Justificación práctica

De encontrar en uno de estos recursos vegetales un potencial tratamiento contra el cáncer gástrico, generaría el aumento de la demanda de los mismos y con ello la producción controlada y a gran escala por parte de agricultores de las zonas peruanas donde crecen estas especies, además de un posible beneficio para las comunidades que tengan bajo su jurisdicción las zonas de crecimiento de estas especies, así como el saber tradicional registrado en INDECOPI.

## 1.5 Objetivos

### 1.5.1 Objetivo general

- Evaluar la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria de los componentes químicos de las hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum*

### 1.5.2 Objetivos específicos

1. Determinar los metabolitos presentes en el extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y hojas y cormo de *Dracontium spruceanum*
2. Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto metanólico y sus fracciones de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum*
3. Determinar la actividad antiinflamatoria *in vitro* del extracto metanólico y sus fracciones de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum*
4. Determinar la actividad antiproliferativa *in vitro* del extracto metanólico y sus fracciones de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* sobre una línea celular de cáncer gástrico
5. Relacionar la actividad antioxidante e inflamatoria *in vitro* de los extractos y sus fracciones con el efecto antiproliferativo sobre una línea celular de cáncer gástrico

## **CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Marco filosófico o epistemológico de la investigación**

La filosofía y la ciencia mantienen en común la utilización del razonamiento lógico en la búsqueda de establecer un marco lo más cercano a la realidad y la verdad, pero se distancian a la vez una de la otra en el sentido que cada una emplea herramientas muy específicas para lograrlo, sin embargo en ocasiones logran complementarse entre ellas, algunas veces el conocimiento filosófico puede estar formado y consolidado por las personas a través del tiempo, y dar origen al conocimiento tradicional que se mantiene de generación en generación, en el marco de la salud, la medicina tradicional adopta diferentes fundamentos filosóficos que la sustentan, cuando estas prácticas son verificadas por el método científico pasan a ser parte de la medicina alopática u occidental, la medicina científica en otras palabras; en este contexto el hecho que un sistema de medicina tradicional no esté verificado aún por la ciencia no debe significar que no sea verdadero, sino mas bien que aún está a la espera que sea demostrado. La medicina herbolaria es una de las más prometedoras, puesto que un gran porcentaje de las medicinas convencionales actuales han sido obtenidas a partir de plantas; para seleccionar una planta a estudiar en determinada enfermedad se pueden seguir varias guías, una de ellas es el saber popular o tradicional, el cual puede estar basado en experiencias satisfactorias o en supersticiones, en el último caso existe una teoría filosófica llamada la teoría de las firmas o los signos, el cual menciona que la naturaleza deja signos en los diferentes recursos naturales que dan referencia a un posible uso terapéutico, un ejemplo podría ser la nuez que asemeja un cerebro humano y el cual puede usarse para tratar afecciones cerebrales, el Huanarpo macho que asemeja un miembro viril y se puede usar para tratar la impotencia; dentro del presente estudio se aborda al Jergón Sacha cuyo tallo asemeja a una serpiente (Jergón) y se evidencia que esta planta es útil contra la mordedura de serpiente (Lovera, Bonilla, & Hidalgo, 2006), sin embargo el túbero o cormo se conoce de manera popular es usado para tratar el cáncer y podría apreciarse que este asemeja a un tumor, por lo que resulta interesante

contrastar este concepto filosófico con el método científico

### **2.1.1 Clasificación sistemática (ver anexo)**

#### **2.1.2. Descripción botánica**

***Dracontium spruceanum*:** El género *Dracontium* está constituido por 23 especies, muchas de ellas distribuidas en los trópicos húmedos; el *Dracontium spruceanum* (antes conocido como *Dracontium loretense Krause*) ocurre desde Costa Rica hasta Brasil y puede medir hasta 1,5-2 m de altura. Esta especie presenta hojas lobulares y el peciolo está cubierto de anillos oscuros muy parecido al de la piel de la serpiente *Bothrops atrox*; comúnmente encontrada con los nombres de hierba del jergón, jergón sachá, hurignpe (Amarakaeri), mágoro (Machiguenga), du nu yubi (Cashinaguas), ronon rao y shanvi yorá (Shipibo conibo), y shandóro (Amahuaca). (Díaz, Gonçalves, & Yoshida, 2011)

***Pipper aduncum*:** *Piper aduncum* L., también conocido como "matíco", "aperta-ruao", "pimenta longa" o "bambú piper" es un arbusto de más de 5 m de altura, nativo del Caribe, pero adaptado para prosperar a través de los trópicos, a menudo actuando como una mala hierba en hábitats perturbados. Presenta una amplia gama de usos tradicionales. (Guerrini et al., 2009)

***Buddleja incana*:** (kiswar en quechua, kiswa en aymara, de manera hispanizada es quishuar, quisoar, quisuar, nombres que también se aplican para otras especies de *Buddleja*, sin embargo, es endémico de Bolivia, Perú, Ecuador y Colombia, creciendo en los fondos del cañón a lo largo de arroyos a elevaciones de 2.700 a 4.500 m. La especie fue nombrada y descrita por primera vez por Ruiz y Pavón en 1778, la *Buddleja incana* es un árbol o arbusto dioico, de 4 a 15 m de altura, el tronco menor a 50 cm en la base, la corteza de color marrón y surcada. Las ramas son subcuadrangulares y tomentosas, y forman una corona redondeada. Las hojas coriáceas son en su mayoría oblongas, de 7 a 21 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho, la superficie superior es glabrescente, a menudo cormosa o rugosa, la inferior blanca o amarillenta tomentosa. Las inflorescencias paniculadas de color amarillo a naranja tienen de 2 a 3 órdenes de ramas frondosas con cabezas de 1 a 1,5 cm de diámetro, cada una con 15 a 40 flores, las corolas de 3 a 4 mm de largo. (Aguilar-Rodríguez & Terrazas, 2016)

## 2.2 Antecedentes de investigación

El jergón sachá es una planta originaria de la selva amazónica, que se ha utilizado de manera tradicional con fines terapéuticos, como en el tratamiento de la mordedura de serpiente y las hernias (Mejía, 2000), en el Perú esta planta ha sido estudiada desde varios aspectos, entre ellos la composición fitoquímica, el tamizaje fitoquímico evidencia la presencia de alcaloides, esteroides, cafetaninos, glicósidos fenólicos, flavonoides, taninos, azúcares, gomas, mucílagos, etc. (Jurado, 1993); en un estudio comparativo de muestras de corno de jergón sachá procedentes de la zona de Lamas, departamento de San Martín, se encontró que la muestra que contenía la mayor concentración de flavonoides correspondía a la provincia de Lamas, distrito Pamashto (Bocanegra, 2007).

Por otra parte mediante la técnica de espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear se encuentra 4 oxilipinas en el corno del jergón sachá (Benavides et al., 2009).

En Brasil se realizaron análisis fitoquímico por espectroscopía de masas, y cromatografía de gases en el corno del Jergón sachá encontrándose sitosterol, estigmasterol, 3- $\beta$ -hidroxi-5-eno-7-cetona, p-hidroxibenzaldehído, ácido p-hidroxibenzoico, 7-oxositosterol acilglicosilado, sitoindoside y sitosterol glicosilado (Díaz et al., 2011)

En Perú se publicó un artículo donde se realizó el efecto antioxidante por el método de DPPH $\cdot$ , del corno del jergón Sachá, recolectado de la región de Huánuco; obteniendo un IC<sub>50</sub> de 164,37  $\mu$ g/ml (Pérez & Inés, 2016)

En Argentina se realizó un estudio comparativo de 65 plantas para evaluar la actividad antioxidante por el método de termólisis del radical 2,2'-azo-bis(2-amidinopropane) (ABAP), obteniéndose la mayor actividad antioxidante total en la raíz del *Dracontium lorentense*. (Desmarchelier, Repetto, Coussio, Llesuy, & Ciccía, 1997)

En Colombia se realizó un estudio de la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante del corno del *Dracontium croatii*,

encontrándose que el extracto global y las fracciones no presentaban actividad antimicrobiana, en cuanto a la actividad antioxidante evaluada por el método de DPPH· halló un IC<sub>50</sub> de 25,12 µg/mL; la actividad antiinflamatoria la realizó por el método de edema auricular inducido por TPA (13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol) en ratón, encontrando un porcentaje de inhibición de aproximadamente 30% para una concentración de 1 mg/oreja en las fracciones de diclorometano y metanol.(Pardo, 2009)

El efecto citotóxico del extracto metanólico del *Dracontium Loretense* sobre la línea celular MDCK fue probado en la Universidad de Ciencias Aplicadas en Perú, encontrando que el extracto no resultaba citotóxico hasta concentraciones de 900 µg/mL (Manrique, 2017)

Por otra parte sobre el estudio del *Pipper aduncum* se realizó un trabajo en Perú para encontrar los metabolitos secundarios presentes en las hojas mediante un tamizaje fitoquímico, encontrando presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, flavonoides, fenoles, taninos, azúcares reductores, quinonas, grasas, cumarinas, resinas y saponinas, además se cuantificó el contenido de flavonoides totales encontrando un promedio de 2,51 gramos equivalentes a quercetina por cada 100 gramos de hojas seca (Vásquez, 2015).

En España realizaron la determinación de estructuras químicas de las hojas del *Pipper elongatum* y encontraron 11 compuestos entre ellos dos dihidrochalconas, las cuales las relacionaron con compuestos sintéticos usados en el tratamiento de la leishmaniasis (Hermoso et al., 2003).

En Japón mediante técnicas de espectroscopía elucidaron un glicósido megastigmano llamado pipelósido A y un aromadendrano tipo sesquiterpenoide llamado pipelol A (Chikako Masuoka, Ono, Ito, Okawa, & Nohara, 2002).

En Perú se realizó un estudio con las hojas de *Piper aduncum* donde se buscó determinar el efecto del extracto etanólico sobre la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad y la actividad antioxidante por DPPH·, encontrando que a 32,4 ppm del extracto se reduce en un 50% la



concentración inicial del DPPH $\cdot$ . (Bazán, Ramos, & Penadillos, 2014) ; así mismo en Japón se evaluó el efecto antioxidante por el método de tiocianato férrico y DPPH $\cdot$ , de siete compuestos extraídos del extracto metanólico de las hojas de *Piper elongatum*, encontrando que posee un efecto más potente incluso que el alfa tocoferol. (C. Masuoka, Ono, Ito, & Nohara, 2003)

El efecto antitumoral del aceite esencial del *Piper aduncum* y su toxicidad oral en ratones fue determinado en un estudio realizado en Perú, encontrando que no posee efecto antitumoral en siete líneas celulares probadas, las cuales fueron: carcinoma pulmonar, adenocarcinomas de colon, adenocarcinomas de mama, melanoma amelanótico, carcinoma de cérvix, carcinomas de próstata, leucemia mieloide crónica, y fibroblastos normales de ratón. También se probó que a las dosis estudiadas no poseían efectos tóxicos. (Arroyo et al., 2014)

Otra planta estudiada es la *Buddleja*, este género comprende aproximadamente 100 especies, en la India se realizó un estudio comparativo entre la composición del aceite esencial de las hojas de la *Buddleja asiática* y *Buddleja davidii* encontrando un total de 15 a 17 componentes respectivamente, entre los cuales identificaron el n-tridecano, n-dodecano, 5-metilundecano, entre otros. (Joshi, Mishra, Bisht, & Khetwal, 2012).

Un trabajo conjunto entre institutos de investigación de Corea y Vietnam logró encontrar terpenoides, flavonoides, iridoides y feniletanoides, pero sobre todo lograron aislar y elucidar saponinas de las flores de *Buddleja officinalis*, entre las que encontraron buddlejasaponin I, la, III y  $\alpha$ -amyrenona, mediante técnicas de resonancia magnética nuclear y métodos espectroscópicos de masas (Tai et al., 2011).

En China determinaron el contenido total e individual de hojas de *Buddleja davidii* y *Buddleja albiflora* basados en la cuantificación de luteolina y apigenina, hallándolos en un rango de 81.6 a 65.64  $\mu\text{g/mL}$  (Ying & Wan, 2012).

En Ecuador, se realizó un estudio de la actividad antioxidante de tres plantas, entre las que se encontraba la *Buddleja incana*, hallándose valores cercanos

al 50% de inhibición de radicales libres, además en el tamizaje fitoquímico se identificó triterpenos, taninos, lactonas, cumarinas, quinonas, catequinas. También se determinó la toxicidad frente a *Artemia salina*, encontrando una dosis de 34 ppm (Guamán, 2004).

En Chile determinaron la actividad antioxidante y antihemolítica de la *Buddleja globosa*, los resultados mostraron que el total de polifenoles de las hojas de B. globosa fue de 19,3 mM, el total de flavonoides representa el 20,3% del total de polifenoles, el análisis por HPLC identificó flavonoides y fenoles, encontrando quercetina, ácido gálico, ácido ferúlico y luteolina, por otra parte el ensayo antihemolítico evidenció que se reduce considerablemente la hemólisis de los eritrocitos humanos y la capacidad antioxidante por el método de capacidad de absorbancia de los radicales de oxígeno (ORAC) determinó una concentración de 3720 micromol de trolox por gramo de muestra. (Suwalsky, Duguet, & Speisky, 2017)

En Sudáfrica estudiaron la *Buddleja salviifolia* para determinar su actividad antiinflamatoria y antioxidante, identificando tres compuestos fenólicos: 4-hidroxifeniletilvanilato, acteosido y quercetina de las hojas, la actividad antioxidante por DPPH· más potente la demostró el acteosido siendo de 25µg/mL. (Pendota, Ndhlala, Aremu, Aderogba, & Van Staden, 2014)

En Egipto se determinó el potencial citotóxico de *Buddleja polystachya* sobre 3 líneas celulares humanas, encontrando que los extractos con diclorometano y acetato de etilo mostraron la más alta actividad citotóxica en las tres líneas celulares, frente a los extractos con n-butanol y agua. (Fawzy, Gamal, & Ati, 2013)

### **2.3 Bases teóricas**

El cáncer es una enfermedad que ha flagelado a la humanidad desde muchos años y con tasas altas de mortalidad, los avances científicos aún no pueden dar solución definitiva a este mal, y los esfuerzos se enfocan en entender la verdadera causa por la que se desarrollan las células cancerosas para poder prevenir y curar este problema.

“El proceso por el cual las células normales se transforman progresivamente en malignas ahora se sabe que se debe a las mutaciones secuenciales que surgen como consecuencia del daño al genoma. Este daño puede ser el resultado de procesos endógenos tales como errores en la replicación del ADN, la inestabilidad química intrínseca de ciertas bases de ADN o el ataque de radicales libres generados durante el metabolismo. El daño en el ADN también puede ser el resultado de las interacciones con agentes exógenos como la radiación ionizante, la radiación UV y los carcinógenos químicos. Las células han desarrollado medios para reparar dicho daño, pero por diversas razones se producen errores y se introducen cambios permanentes en el genoma: mutaciones.”(Bertram, 2000)

“La mayoría de las formas de cáncer surgen a través de un proceso evolutivo darwiniano. La selección natural que finalmente conduce al cáncer tiene lugar en los tejidos somáticos, aunque puede desencadenarse por mutaciones heredadas en una minoría pequeña pero significativa. Se han identificado genes que participan en estas mutaciones, los cuales son: Oncogenes, constitutivamente activados por cambios estructurales y / o regulatorios que conducen a la célula a la proliferación continua; Genes supresores de tumores, que pueden inhibir el ciclo celular ilegítimamente activado. Contribuyen al desarrollo tumoral mediante mutaciones de pérdida o regulación descendente permanente, por metilación; Los genes inhibidores de apoptosis que pueden contribuir al desarrollo tumoral al elevar el umbral apoptótico y la apoptosis promueven genes que pueden favorecer el crecimiento de células tumorales propensas a la apoptosis por su pérdida o inactivación; Los genes de reparación del ADN cuya inactivación puede contrarrestar la eliminación normal de las células que portan mutaciones potencialmente promotoras del cáncer. Las mutaciones heredadas en los

genes de reparación del ADN pueden conducir a síndromes de cáncer familiar. Genes de immortalización que contrarrestan la senescencia celular; La angiogénesis promueve genes cuyos productos pueden estimular el suministro vascular de tumores; Los genes cuyos cambios estructurales o funcionales pueden facilitar el escape de las células tumorales del rechazo inmunológico. Se deduce que cada tumor debe considerarse como un individuo biológicamente único.”(Klein, 2000)

“Los patrones de mutación de algunos genes identificados en tumores sugieren una acción directa de sustancias químicas que se unen y alteran el ADN. Otros genes asociados al cáncer pueden alterarse como consecuencia de mutágenos endógenos, mutaciones en la línea germinal, mutaciones espontáneas que se producen durante la replicación celular o una mayor inestabilidad genética en células precancerosas”.(Devereux, Risinger, & Barrett, 1999)

En la actualidad existen diferentes opciones para tratar el cáncer, estos dependen del tipo de cáncer y que tan avanzado se encuentre, entre estas opciones figuran la cirugía, quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, quimioinmunoterapia, terapia dirigida o terapia con hormonas, trasplante de células madre

La quimioterapia tiene como objetivo destruir las células del tumor, con el fin de lograr la desaparición, detención o reducción de la enfermedad. La quimioterapia actúa en la fase de división de la célula tumoral, impidiendo su multiplicación y eventualmente destruyéndolas.

Algunos quimioterápicos son los siguientes: clorambucil, melfalán, metotrexato, 6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo, Derivados del platino, como el cisplatino, entre otros, también hay algunos derivados de recursos naturales como los Alcaloides de la vinca, donde se encuentran el etopósido, tenipósido, vincristina y la vinblastina.

Los fármacos anticancerosos llegan prácticamente a todos los tejidos del organismo, sin diferenciar las células malignas de las sanas. Esto provoca en el paciente una serie de efectos secundarios, que en general desaparecen una vez finalizado el tratamiento. Las células sanas que con más frecuencia

son dañadas implican las células de la médula ósea, del tracto digestivo y del folículo piloso, lo que da lugar a los efectos secundarios más comunes de la quimioterapia, que son: inmunosupresión, astenia, mucositis y alopecia, entre otros. Tales efectos suelen ser transitorios, aunque si no llegan a ser controlados o tolerados por el paciente pueden producir toxicidad y suspender, como consecuencia, el tratamiento quimioterápico temporalmente. (Asociación Española contra el cancer, 2018)

Debido a los efectos secundarios que muestran estos compuestos sintéticos, se está estudiando compuestos de origen natural, en las plantas se encuentran gran variedad de compuestos bioactivos y con potencial efecto antitumoral, tal es el caso de las acetogeninas, obtenidas de la *Annona muricata*, compuesto que posee efecto antitumoral, efectivo contra células de hepatocarcinoma obteniendo resultados de inhibición al 50.98% con dosis de 4 mg/kg probados en ratón (Yang et al., 2015), eficaz también en cáncer gástrico (Li et al., 2017) ; además de efecto para inhibir las oxidasas y complejos de NADH, sin embargo no por ser de origen natural deja de presentar efectos adversos, se conoce que los productos ricos en acetogeninas pueden inducir parkinsonismo atípico. El mecanismo de toxicidad está relacionado con la capacidad de las acetogeninas para quelar los iones de calcio por el anillo de THF hidroxilado con formación de complejos que ayudan a los cationes de calcio en las membranas celulares a penetrar y elevar los niveles de calcio intracelular. (Tundis, Xiao, & Loizzo, 2017)

Según la teoría clásica del desarrollo del cáncer, cuándo estas mutaciones se daban en alguna célula aparecería cáncer. Sin embargo, esto no siempre es cierto, sino que el organismo cuenta con métodos de reparación y control de estas células y las investigaciones actuales se centran en el llamado *microambiente* de las células que presentan las mutaciones cancerosas como determinante en el desarrollo del cáncer. Es en este microambiente dónde entra en juego la inflamación como factor de riesgo.(García-Heredia & Carnero, 2017)

En la respuesta inflamatoria participa el sistema vascular local y células del sistema inmune, especialmente granulocitos, con la mediación de citocinas.

La relación entre la inflamación y el cáncer se basa en observaciones como algunas enfermedades que cursan con inflamación crónica, como la pancreatitis o la enfermedad de Crohn, que aumentan notablemente el riesgo de padecer cáncer. Esta relación estadística también se observó en enfermedades infecciosas que producen inflamación, tales como hepatitis o infección estomacal por *Helicobacter pylori*. (Kiraly, Gong, Olipitz, Muthupalani, & Engelward, 2015)

Se conoce que la señalización celular por citocinas inflamatorias promueven el desarrollo de cáncer sin embargo en el 2008 se comprobó por primera vez la relación directa entre inflamación y cáncer. En ese año se demostró que la inflamación crónica provocaba daños en el ADN que conducían al desarrollo de cáncer en un experimento con ratones.

No se conoce el mecanismo exacto por el que la inflamación crónica provoca cáncer. El pensamiento más extendido actualmente es que las células cancerosas se ayudan de la respuesta inflamatoria para su crecimiento, lo que finalmente conduce al desarrollo de cáncer. (Meira et al., 2008)

Nuestro organismo cuenta con mecanismos de reparación de ADN y de inducción de la muerte celular en células dañadas que no pueden ser reparadas. Cuando este mecanismo falla, un pequeño tumor puede comenzar a gestarse compuesto por unas pocas células. Estas células crecen y se dividen demandando cada vez mayores cantidades de oxígeno y nutrientes. En un momento dado, las células cancerosas liberan señales químicas que atraen a macrófagos y granulocitos, células del sistema inmune presentes en la respuesta inflamatoria.

Las citocinas liberadas por los macrófagos y granulocitos en el interior del tumor promueven el desarrollo de vasos sanguíneos (angiogénesis) que servirán para llevar el oxígeno y los nutrientes que demandan las células cancerosas. Otras citocinas inducen la formación del estroma que sustenta al tumor.

Además de este efecto, en la respuesta inflamatoria se generan multitud de radicales libres, sustancias que pueden dañar aún más el ADN de las células cancerosas (Rakoff-Nahoum, 2006); es aquí donde radica la importancia de realizar pruebas de actividad antioxidante para evaluar los diferentes mecanismos de acción que puedan contribuir al efecto antitumoral.



## CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

Se usó un estudio de tipo experimental, transversal, el cual involucra métodos colorimétricos, espectrofotométricos y estadísticos asociados a diferentes técnicas, las cuales se describirán en este capítulo.

### 3.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS:

#### 3.1.1 Ubicación geográfica de colecta

##### *Dracontium spruceanum*

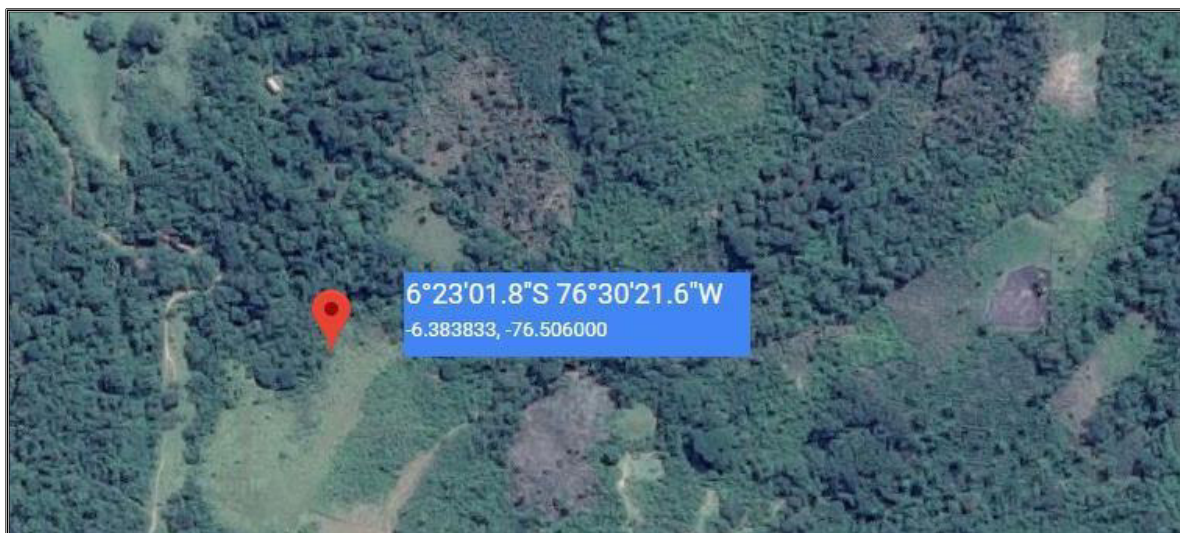
Las muestras fueron colectadas en la ciudad de Lamas ubicada entre los 310 a 920 msnm en el Departamento de San Martín. En las coordenadas 6°23'01.8"S 76°30'21.6"W.

La planta se presenta como un Arbusto de 2 metros de altura, follaje verde amarillento, con hojas palmeadas sin flores.



**Figura 1.** Ubicación geográfica de colecta del Jergón sachá

Provincia Lamas, Departamento San Martín (imagen obtenida de google maps)



**Figura 2.** Coordenadas geográficas del sitio de colecta de jergón sachá

Ubicación: 6°23'01.8"S 76°30'21.6"W (imagen obtenida de google maps)



**Figura 3.** Hojas de *Dracontium spruceanum*  
(Fuente propia)



**Figura 4.** Cormo de *Dracontium spruceanum*  
(Fuente propia)

### ***Piper aduncum***

Recolectada en la zona del bajo Kimiri, distrito de la Merced, provincia de Chanchamayo, departamento de Junín en las coordenadas 11°02'16.5"S 75°18'54.0"W.

Es un árbol perenne de 5 metros de altura con tallo leñoso, ramificado y verde. Con hojas de color verde claro, alternas y en forma de lanza con el ápice en punta, de 12-20 cm de largo y 5-8 de ancho.



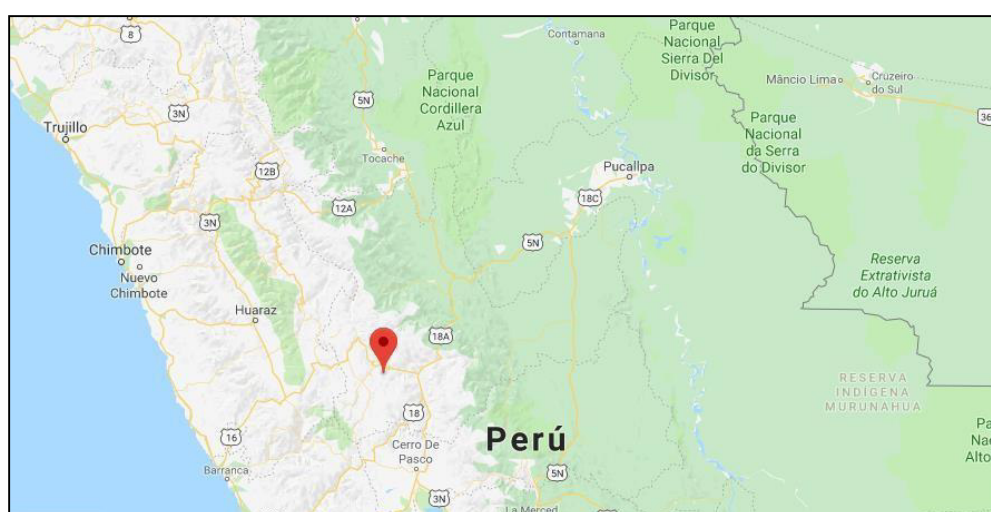




**Figura 7.** Hojas de *Piper aduncum* (Fuente propia)

### ***Buddleja incana***

La colecta de muestras se realizó en el caserío Piruro, centro poblado Margos, distrito de Yacus, provincia y departamento de Huánuco. Las coordenadas geográficas referenciales son 9°57'18.7"S 76°31'28.8"W, a 3703 m de elevación. La vegetación corresponde a un matorral de puna con árboles de Buddleja. Es un árbol de 4 a 8 m de alto.



**Figura 8.** Ubicación geográfica de colecta de *Buddleja incana*

Provincia Huánuco, Departamento Huánuco (imagen obtenida de google maps)



**Figura 9.** Coordenadas geográficas del sitio de colecta de *Buddleja incana*

Ubicación: 9°57'18.7"S 76°31'28.8"W (imagen obtenida de google maps)



**Figura 10.** Hojas y flores de Quishuar

Izquierda: hojas de quishuar. Centro: árbol de quishuar. Derecha: flores de quishuar (Fuente propia)

### 3.1.2 Población de estudio

La densidad aproximada de las plantas donde se recolectaron fueron de 500 ejemplares por hectárea de *Buddleja incana* procedentes del departamento de Huánuco, 40 ejemplares por área de *Piper aduncum* procedentes del departamento de Junín y 250 ejemplares por hectárea de *Dracontium spruceanum* procedentes del departamento de San Martín.

### **3.1.3 Tamaño de muestra**

La cantidad colectada fue de aproximadamente 4 kilogramos de hojas, de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* y adicionalmente 4 kilogramos de corno de *Dracontium spruceanum*; todas de origen silvestre.

### **3.1.4 Selección de muestra**

Se seleccionaron las hojas en buen estado, libre de plagas, hongos y colores que denoten posible alteración, además las hojas más grandes de cada ejemplar, para asegurar no tomar las que recién están formándose, se colectó flores adicionalmente para el reconocimiento taxonómico y en el caso del *Dracontium spruceanum* adicionalmente se colectó el corno.

## **3.2 Obtención de los extractos y fracciones**

El material colectado fue identificado taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, luego procesado en el laboratorio de Química de Productos Naturales de la Universidad Científica del Sur, el procesamiento consistió en el lavado y secado primero con hojas de papel toalla y luego en una estufa a 40°C por 2 días para las hojas y 4 días para los cormos. Luego se disminuyó el tamaño de partícula en una licuadora marca Oster de 2 caballos de fuerza, y pasado por un tamiz N° 80 hasta obtener un polvo fino y almacenado en frascos de vidrio de boca ancha a una temperatura de 2 a 8 °C.

Luego se pesa una cantidad determinada de cada muestra y se macera en envases de boca ancha con 1 litro de metanol pa. (Merck). por cinco días considerando exposiciones diarias de 2 horas en un baño de ultrasonido a 40 °C.

Después de los cinco días de maceración, se filtra con tela de tocuyo y luego con papel filtro Whatman N°1 al vacío, el filtrado es concentrado al rotavapor (35°C, 24 rpm, 200 mbar) hasta concentración y el metanol recuperado es completado a un litro con más metanol y utilizado para seguir macerando el marco por 5 días más, este proceso se repite cinco veces.



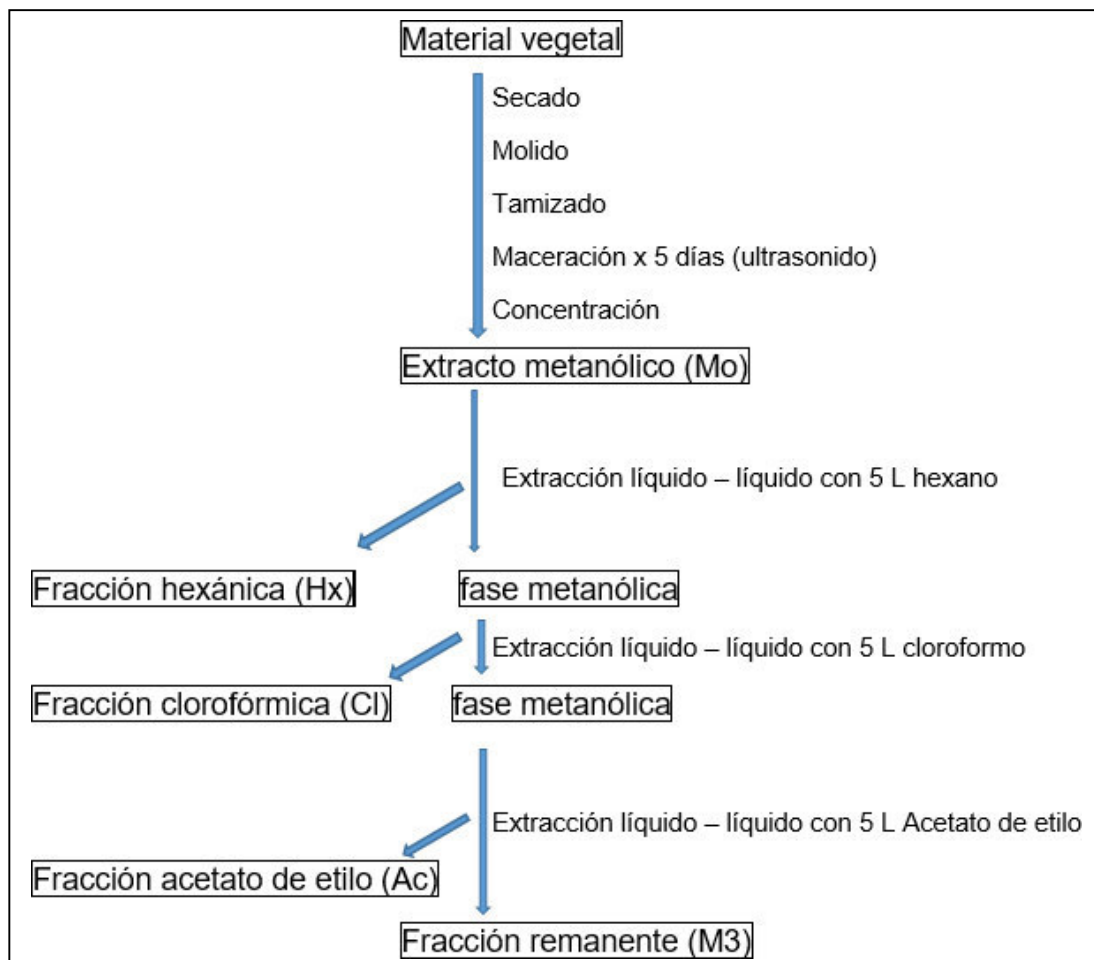
**Figura 11.** Extractos metanólicos

Los concentrados se juntan y se terminan de secar en una estufa a 30°C, pesándose y obteniendo el rendimiento de la extracción metanólica. Este extracto seco se almacena en frascos de vidrio de 50 mL y rotulados. El procedimiento es el mismo para las 4 muestras.

Del extracto metanólico seco se extrae aproximadamente 100 mg para pruebas posteriores y el resto es utilizado para el fraccionamiento, para este procedimiento se escogió como método la extracción líquido – líquido, como fraccionamiento inicial de los extractos; el extracto metanólico seco es redissuelto en alrededor de 200 mL de metanol y extraído en una pera de decantación con 200 mL de hexano (JT Baker), la fase hexánica luego es separada y concentrada en el rotavapor (30°C, 20 rpm, 400 mbar), el hexano recuperado es completado a 200 mL con hexano y usado nuevamente para realizar otra extracción a la fase metanólica, este procedimiento se repite entre 9 a 15 veces según la muestra tratada. Las fases hexánicas concentradas se juntan y se terminan de secar en estufa a 30°C, obteniendo así la fracción hexánica, se pesa y se obtiene el rendimiento.

Se continúa este procedimiento de extracciones sucesivas teniendo en cuenta la serie eleutrópica de solventes de menor a mayor polaridad y la miscibilidad de los solventes escogidos, con el metanol, es así que luego del hexano se continua con el Cloroformo (condiciones de rotaevaporación: 35°C, 24 rpm, 1<sub>50</sub> mbar) y luego el Acetato de etilo (condiciones de rotaevaporación: 35°C, 24 rpm, 200 mbar); obteniendo así las fracciones clorofórmicas y de acetato de etilo respectivamente, para finalizar este proceso la última fracción se

considera al remanente, es decir al extracto metanólico luego de ser sometido a las extracciones sucesivas líquido – líquido con estos tres solventes.



**Figura 12.** Esquema de obtención del extracto metanólico y fracciones

(Fuente propia)

### 3.3 Análisis fitoquímico

#### 3.3.1 Tamizaje fitoquímico

Para la caracterización fitoquímica de las plantas se siguió el método descrito por Lock con cierta modificación, este procedimiento busca identificar cualitativamente ciertos grupos de metabolitos secundarios.

Se pesó 10 g de la muestra vegetal seca y molida, la cual se colocó en un matraz de 500ml, se le agrego 80ml de metanol. Se maceró por 20 h a temperatura ambiente, cumplido este tiempo se reflujo por 4 horas en un baño maría a 68°C, se utilizaron unos tubos largos para permitir que el metanol se enfríe en las paredes y condense. Luego se filtró en caliente sobre papel filtro



wathman N°1, el marco se lavó con 20ml de MeOH, se calentó y filtró, luego se juntaron los filtrados. Se separaron 5ml del extracto metanólico **Fracción A** y se evaluaron compuestos fenólicos, taninos y flavonoides.

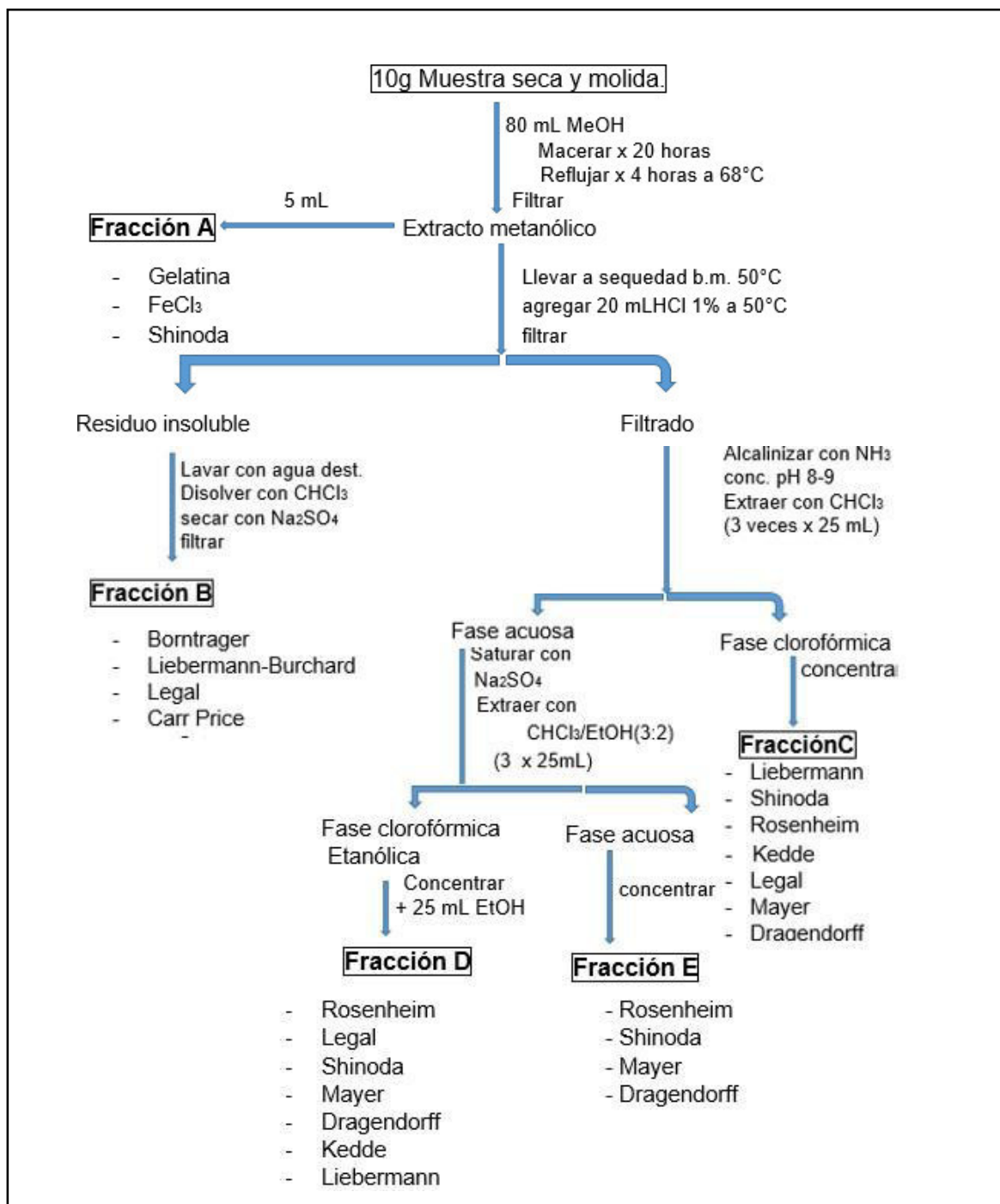
El extracto metanólico restante se llevó a sequedad sobre un baño maría a 50°C, al extracto seco se le agregó 20ml de HCl 1% a 50°C y se filtró en caliente; obteniéndose un residuo insoluble y una solución ácida. El residuo insoluble fue lavado con agua destilada, luego disuelto con cloroformo  $\text{CHCl}_3$  tibio, las trazas de agua fueron removidas con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se filtró obteniéndose la **Fracción B**, siendo evaluada quinonas, esteroides, lactonas y vitamina A.

La solución ácida fue alcalinizada con  $\text{NH}_3$  conc. (pH 8-9), luego en una pera de separación se extrajo con 25ml de  $\text{CHCl}_3$ , por tres veces y se obtuvo dos fases: acuosa y clorofórmica. La fase clorofórmica, **Fracción C**, se concentró hasta 5ml siendo evaluada para esteroides, flavonoides, leucoantocianidinas, glicósidos cardíacos, lactonas y alcaloides. La fase acuosa es saturada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y tratada con 25 ml de  $\text{CHCl}_3$ : EtOH (3:2) por tres veces, obteniéndose una fase clorofórmica-etanólica y una acuosa.

Esta última es la **Fracción E** y se concentró a 5ml para determinar flavonoides, alcaloides y leucoantocianidinas. La fase clorofórmica-etanolica es la **Fracción D**, se concentró y se añadió 25 mL de etanol para realizar las pruebas de alcaloides, glicósidos cardíacos, esteroides, leucoantocianidinas, catequinas, lactonas y flavonoides (Lock, 1994). Adicionalmente a 1 gramo de muestra seca hervida con agua se le realiza la prueba de la espuma para detectar saponinas.

**Tabla 1.** Procedimiento para pruebas fitoquímicas (Lock, 1994)

<b>Técnica</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Resultado positivo</b>	<b>Posible grupo fitoquímico</b>
<b>Legal</b>	2 mg muestra/agua + 1 mL nitroprusiato de sodio 0.5% en agua	Rojo oscuro	Lactonas
<b>Cloruro férrico</b>	2 gotas de muestra/2 mL de metanol + 1 gota de FeCl <sub>3</sub> 1% en MeOH	Colores intensos	Fenoles
<b>Carr-Price</b>	1 mg muestra/ CHCl <sub>3</sub> + 2 mL SbCl <sub>3</sub> 30% en CHCl <sub>3</sub>	Azul	Vitamina A
<b>Kedde</b>	a: ácido 3,5-dinitrobenzoico 2% en MeOH b: KOH 5.7% en agua 1 mg muestra + 2 gotas del reactivo (a+b 1:1)	púrpura	Glicósidos cardíacos
<b>Liebermann-Burchard</b>	1mg muestra/ gotas de HOAc + 3 ml AcO/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (50:1)	Verde o azul	Esteroides
<b>Borntrager</b>	Muestra/benceno + NaOH 5% ac	Rojo en fase acuosa	Antraquinonas
<b>Gelatina</b>	Muestra 1 gota reactivo (1g gelatina/100 mL agua + 10 gNaCl)	Azul, verde o negro	Taninos y fenoles
<b>Shinoda</b>	Muestra limadura Mg + HCl conc.	rojo	Flavonoides
<b>Rosenheim</b>	Muestra + HCl 2N/1-propanol. Hervir 30 min.	Rojo Marron	Leucoantocianidinas catequinas
<b>Dragendorff</b>	a: 8g Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O/20 mLHNO <sub>3</sub> b: 27.2g KI/50 mLagua (mezclar, reposar, decantar sobrenadante diluir a 100 mL) Sol. Ácida de muestra + gotas reactivo	pp naranja	Alcaloides
<b>Mayer</b>	a: 1.36 g HgCl <sub>2</sub> /60 mLagua b: 5g KI/10ml agua (mezclar y diluir a 100mL) gotas reactivo + sol. ácida de muestra	pp blanco	Alcaloides
<b>Espuma</b>	1 gramo de muestra vegetal hervida en agua destilada x 5 minutos. Agitar vigorosamente	Se forma espuma que resiste más de un minuto	Saponinas



**Figura 13.** Diagrama de tamizaje fitoquímico propuesto por Olga Lock  
(Elaboración propia bajo el sistema propuesto por Olga Lock y adecuado al  
proceso de investigación por el autor)

### 3.3.2 Ensayo de solubilidad

Para este ensayo se trabajó con miligramos de muestra y se colocó en un tubo de ensayo con 1 mL de solvente y se agitó. Las muestras que no se disolvieron fueron calentadas con Baño María a 80°C. la solubilidad de los extractos y fracciones se realizó con los siguientes solventes: Agua, metanol, etanol, acetona, acetato de etilo, cloroformo, n-hexáno, dimetilsulfóxido, éter de petróleo y benceno.

### 3.3.3 Ensayos de cromatografía en capa fina

Este ensayo permitió conocer las cantidades mínimas de metabolitos secundarios contenidos en los extractos de plantas. Para tal fin se utilizó la cromatografía en capa fina revelada a luz ultravioleta de 254 nm y yodo bisublimado. Como fase móvil se emplearon solventes de baja polaridad hasta ácido acético. Además, una combinación de solventes, que permitieron una mejor separación.

## 3.4 Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*

### 3.4.1 Método DPPH· (2,2-difenil-1-picrililhidracilo)

La actividad antioxidante se determinó utilizando un radical libre, el 2,2-difenil-1-picrililhidracilo (DPPH·). En su forma radical DPPH· tiene una banda de absorción a 515 nm que desaparece al reducirse con un compuesto antirradical. (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995), esta reducción puede medirse con el espectrofotómetro y expresar los resultados en porcentaje de reducción, o en equivalencias con un control que sería una molécula antioxidante conocida, para este caso se utilizó trolox y ácido ascórbico, se realiza el cálculo del IC<sub>50</sub> (concentración inhibitoria media), y se compara la capacidad antioxidante relativa, que es la relación entre el IC<sub>50</sub> de la muestra y del control analizado bajo las mismas condiciones (Rodriguez, Andrade, & Diaz, 2015), expresar los resultados en estos términos permite una mejor reproducibilidad de los mismos.

**3.4.1.1. Preparación del patrón (DPPH·):** Se pesa 10 mg del DPPH· (Merck) y se diluye a 10 mL con metanol, de esta solución se toma 2 mL y se diluye

nuevamente a 100 mL con metanol, la solución resultante tiene una concentración de 20 ppm y se almacena en oscuridad para las pruebas.

**3.4.1.2 Preparación de los controles:** Se prepara una solución madre de trolox (Merck) y ácido ascórbico (Merck) a 1000 ppm en metanol, y de esta se diluye hasta obtener diluciones de 500, 250 y 100 ppm para cada control.

**3.4.1.3 Preparación de las muestras:** Tanto los extractos como las fracciones son llevadas a una concentración de 100 000 ppm (100 mg/mL) en DMSO (Merck), de las cuales se hacen diluciones de 50 000, 25000, 12500, 6250 y 3125 ppm con DMSO, de estas 6 concentraciones obtenidas se realiza diluciones de 1 en 100 de cada una, en metanol, obteniendo las concentraciones de 50000, 10000, 1000, 500, 250, 125, 62.5 y 31.25 ppm. (las de 50000 y 10000 se prepararon a partir de la de 100000 ppm)

**3.4.1.4 Ejecución del análisis:** Se mezclan las muestras y DPPH· con ayuda de una micropipeta (eppendorf) de 10 a 200 uL en placas de 96 pocillos (costar) de la siguiente manera:

**Tabla 2.** Diseño de preparación de soluciones para medir actividad antioxidante por DPPH·

	Muestras	Blanco-Muestra	Controles	Blanco-controles	Patrón	Blanco
Muestra (μL)	20	20				
Control (μL)			20	20		
DPPH· (μL)	80		80		80	
DMSO 1% en MeOH (μL)		80		80	20	100

El análisis se realiza por triplicado, se deja incubar 30 minutos en oscuridad y luego se lleva una lectora de placas (sinergy) a una longitud de 517 nm.

Las absorbancias son interpretadas por las siguientes fórmulas:

$$\% \text{Actividad Antioxidante} = \left[ \frac{A_{\text{control}(-)} - (A_{\text{extracto}} - A_{\text{blanco extracto}})}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

$\text{Capacidad antioxidante Relativa} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ Control}}{\text{IC}_{50} \text{ Muestra}}$
--

### 3.4.2 Método **ABTS•+(ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)**

Este ensayo consiste en la decoloración del reactivo de azul a incoloro debido a su interacción con antioxidantes tanto lipófilos como hidrófilos, incluidos los flavonoides, los hidroxicinamatos, los carotenoides y los antioxidantes plasmáticos. La formación de radicales preformados del ácido 2,2'-azinobis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS•+ +) se genera por oxidación de ABTS•+ con persulfato de potasio para luego reducirse en presencia de dichos antioxidantes donadores de hidrógeno (Re et al., 1999). Esta reducción puede medirse con el espectrofotómetro a una longitud de 732 nm y expresar los resultados en porcentaje de reducción, o en equivalencias con un control como el trolox y ácido ascórbico, se calcula el IC<sub>50</sub> y la capacidad antioxidante relativa.

**3.4.2.1 Preparación de patrón (ABTS•+):** Pesar 77.6 mg del reactivo ABTS•+(Merck) y adicionar 20 mL de agua destilada para obtener una concentración de 7 mM en solución acuosa, pesar 13.2 mg de persulfato de potasio y adicionarlo a la solución de ABTS•+, homogenizar y dejar en oscuridad incubando a temperatura ambiente por 16 horas, luego diluir la solución con metanol hasta obtener una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 732 nm (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini, & Fett, 2005).

**3.4.2.2 Preparación de los controles:** Se prepara una solución madre de trolox y ácido ascórbico a 1000 ppm en metanol, y de esta se diluye hasta obtener diluciones de 500, 100 y 10 ppm para cada control.

**3.4.2.3 Preparación de las muestras:** Tanto los extractos como las fracciones son llevadas a una concentración de 100 000 ppm (100 mg/mL) en DMSO, de las cuales se hacen diluciones de 50 000, 25000, 12500, 6250, 3125, 1562.5, 781.25 ppm con DMSO, de estas 8 concentraciones obtenidas se realiza diluciones de 1 en 100 de cada una, en metanol, obteniendo las concentraciones de 50000, 10000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, y 7.81 ppm. (las de 50000 y 10000 se prepararon a partir de la de 100000 ppm)

**3.4.2.4 Ejecución del análisis:** Se mezclan las muestras y DPPH· con ayuda de una micropipeta (eppendorf) de 5 a 200 uL en placas de 96 pocillos (costar) de la siguiente manera:

	Muestras	Blanco-Muestra	Controles	Blanco-controles	Patrón	Blanco
Muestra (μL)	5	5				
Control (μL)			5	5		
ABTS•+(μL)	145		145		145	
DMSO 1% en MeOH (μL)		145		145	5	150

El análisis se realiza por triplicado, se deja incubar 30 minutos en oscuridad y luego se lleva una lectora de placas (sinergy) a una longitud de 732 nm. Se utilizan las mismas fórmulas que el método DPPH·.

### 3.5 Determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*

Esta técnica está basada en la relación entre la actividad antiinflamatoria de una sustancia y su influencia en la estabilización de la membrana de los eritrocitos, pudiendo medir la capacidad de un compuesto en el grado de protección que ofrece frente a la hemólisis causada por diversos agentes, para este caso la hemólisis será causada por la presión osmótica del medio, y la cantidad de hemólisis es medida en función a la hemoglobina liberada la cual presenta un espectro de absorción a 560 nm en solución acuosa (Fernández et al., 2007) La estabilización de la membrana lisosomal es relevante para limitar la respuesta inflamatoria por inhibición de la liberación de constituyentes lisosomales de neutrófilos activados tales como enzimas o

proteasas; causando inflamación en el tejido tisular y dañando la liberación extracelular o mediante la estabilización de la membrana lisosomal. La membrana eritrocitaria es análoga a la membrana lisosomal. Por lo tanto, la estabilización de la membrana celular de glóbulos rojos humanos por hipotonicidad induciendo la lisis de membrana puede considerarse como una medida in vitro de la actividad antiinflamatoria de compuestos orgánicos. (García, 2016)

### **3.5.1 Preparación la suspensión de glóbulos rojos**

Se extrae 5 mL de sangre de un sujeto sano, que no esté consumiendo medicamentos, esta sangre se mezcla con igual volumen de solución de Alsever (2% de dextrosa, 0,8% de citrato de sodio, ácido cítrico 0,05% y 0,42% de cloruro de sodio en agua). La sangre se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min y las células empaquetadas se lavaron tres veces con una solución isosalina (0,85%, pH 7,2). El volumen de la sangre se midió y se reconstituyó al 10% v/v con solución isosalina 0.85% (Acostupa, 2017)

### **3.5.2 Preparación de los controles**

Como controles se utilizan una ampolla de hidrocortisona succinato sódico en polvo reconstituida con agua ultrapura, y una ampolla de dexametasona fosfato solución inyectable (4mg/mL) los cuales son diluidos con agua ultrapura hasta concentraciones de 1000, 500 y 2<sub>50</sub> ppm cada una.

### **3.5.3 Preparación de las muestras**

Tanto los extractos como las fracciones son llevadas a una concentración de 100 000 ppm (100 mg/mL) en DMSO de las cuales se hacen diluciones de 50 000, 25000 ppm con DMSO, de estas 3 concentraciones obtenidas se realiza diluciones de 1 en 100 de cada una, en agua ultrapura, obteniendo las concentraciones de 1000, 500, 2<sub>50</sub> ppm

### **3.5.4 Ejecución del análisis**

Se mezclan 1 volumen de las muestras con 2 volúmenes de solución hiposalina (0.36%) o isosalina (0.85%) según sea el caso, se añade 1 volumen de buffer fosfato (pH 7.2 0.15 M) y 0.5 volúmenes de la suspensión de glóbulos rojos en placas de 96 pocillos (costar) por triplicado, de la siguiente manera:



**Tabla 3.** Diseño de preparación de soluciones para medir actividad antiinflamatoria (Elaboración propia)

	Muestras	Blanco-Muestra	Controles	Blanco-controles	Patrón	Blanco
Muestra (μL)	50	50				
Control (μL)			50	50		
Suspensión eritrocitos(μL)	25		25		25	
Buffer fosfato(μL)	50	50	50	50	50	50
Solución isosalina (μL)		25		25		25
Solución hiposalina μL	100	100	100	100	100	
Agua (μL)					50	150

Se mezcla suavemente para evitar influir en la lisis de los glóbulos rojos, luego se incuba 30 minutos a 37°C, se centrifuga 15 minutos a 3000 rpm, se retira 200 μL de sobrenadante y se trasvasa a una placa de 96 pocillos para su lectura a 560 nm. Los resultados se procesan en función del porcentaje de protección, el cual está directamente relacionado con la actividad antiinflamatoria, se usa la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Protección} = \left( \frac{(\text{Abs Muestra} - \text{Abs Blanco muestra})}{\text{Abs Patrón}} \right) \times 100$$

Además, se calcula el IC<sub>50</sub> y también puede relacionarse con un control.

### **3.6 Determinación de la actividad antiproliferativa *in vitro***

Para evaluar la actividad antiproliferativa de los extractos se medirá la citotoxicidad en la línea celular de cáncer gástrico AGS (adenocarcinoma gástrico) usando una técnica colorimétrica con el indicador rezasurina.

La resazurina es un indicador redox permeable a las células que puede usarse para monitorear el número de células viables con protocolos similares a los que utilizan los compuestos de tetrazolio. La resazurina se puede disolver en tampones fisiológicos (lo que resulta en una solución de color azul profundo) y se puede agregar directamente a las células en cultivo. Las células viables con metabolismo activo pueden reducir la resazurina al producto de resorufina que es rosado y fluorescente (T. Riss et al., 2016)

El protocolo a seguir es el siguiente:

1. Sembrar células AGS usando medio de cultivo DMEM-F12 (Biowest) con 10% de suero fetal Bovino y antibiótico-antimicótico 1X (Biowest). Incubar a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> hasta alcanzar una confluencia entre el 70 -80%.
2. Lavar las placas 2 veces con buffer fosfato salino (PBS) y disociar las células usando tripsina (Biowest) al 0.025%.
3. Colectar las células resuspendidas y centrifugar en un tubo cónico de 50ml a 1200 RPM por 5 minutos.
4. Descartar el sobrenadante y resuspender el pellet celular en 1ml de medio de cultivo. Contar las células con una cámara Neubauer.
5. Preparar una suspensión celular a una concentración de  $2.5 \times 10^4$  células /ml usando medio DMEM-F12 (sin rojo de fenol) completo.
6. Repartir 100ul de la suspensión celular en cuatro placas de 96 pocillos, de acuerdo al siguiente esquema:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	células	células	células	células		células		células		células	
	células	células	células	células		células		células		células	
	células	células	células	células		células		células		células	
	células	células	células	células		células		células		células	
	células	células	células	células		células		células		células	
	células	células	células	células		células		células		células	

Después de 24 horas, retirar el medio de cultivo y agregar el extracto o fracción de planta disuelto a las siguientes concentraciones: 1000µg/mL, 500µg/mL, 250µg/mL, 125µg/mL, 62.5µg/mL, 31.25 µg/mL, 15.625µg/mL, 7.8125µg/mL en medio de cultivo DMEM-F12 (sin rojo de fenol) completo.

El diseño de la placa será el siguiente:

**Placa 1 (24h y 48h)**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B:	B	CN	CP	VEH	E1	E1-B	E2	E2-B	E3	E3-B	E4	E4-B
MC	B	CN	CP	VEH	E1	E1-B	E2	E2-B	E3	E3-B	E4	E4-B
solo	B	CN	CP	VEH	E1	E1-B	E2	E2-B	E3	E3-B	E4	E4-B
CN:	B	CN	CP	VEH	E1	E1-B	E2	E2-B	E3	E3-B	E4	E4-B
MC	B	CN	CP	VEH	E1	E1-B	E2	E2-B	E3	E3-B	E4	E4-B
+												
células												

E2: 15.625µg/mL Extracto + células

CP: MC + células + DMSO 15%  
(Citotoxicidad)

E2-B: 15.625µg/mL Extracto

E3: 31.25µg/mL Extracto + células

VEH: MC + células + DMSO 1%

E3-B: 31.25µg/mL Extracto

E1: 7.8125µg/mL Extracto + células

E4: 62.5µg/mL Extracto + células

E1-B: 7.8125µg/mL Extracto

E4-B: 62.5µg/mL Extracto

**Placa 2 (24h y 48h)**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	CN	CP	VEH	E5	E5-B	E6	E6-B	E7	E7-B	E8	E8-B
B	CN	CP	VEH	E5	E5-B	E6	E6-B	E7	E7-B	E8	E8-B
B	CN	CP	VEH	E5	E5-B	E6	E6-B	E7	E7-B	E8	E8-B
B	CN	CP	VEH	E5	E5-B	E6	E6-B	E7	E7-B	E8	E8-B
B	CN	CP	VEH	E5	E5-B	E6	E6-B	E7	E7-B	E8	E8-B

Donde

B: MC solo (Blanco)

CN: MC + células (control negativo)

CP: MC + células + DMSO 15% (Citotoxicidad) (control positivo)

VEH: MC + células + DMSO 1% (vehículo)

E5: 125µg/mL Extracto + células

E5-B: 125µg/mL Extracto

E6: 250µg/mL Extracto + células

E6-B: 250µg/mL Extracto

E7: 500µg/mL Extracto + células E7-B: 500µg/mL Extracto

E8: 1000µg/mL Extracto + células

E8-B: 1000µg/mL Extracto

7. Después de transcurridas 21 horas, agregar 20ul de resazurina al 0.15mg/ml. Incubar a 37°C durante 3 horas.
8. Leer a longitudes de onda de 570nm y 600 nm.
9. Repetir el paso 8 a las 45 horas de exposición a los extractos.
10. Leer a longitudes de onda de 570nm y 600 nm.
11. Calcular el porcentaje de diferencia de las células tratadas con el control de acuerdo a la siguiente fórmula (T. Riss et al., 2016):

<b>Diferencia de porcentaje de reducción entre células tratadas y células control</b>	<b>=</b>	$\frac{(O2 \times A1) - (O1 \times A2)}{(O2 \times P1) - (O1 \times P2)} \times 100$
---	----------	--

Donde:

- O1 = coeficiente de extinción molar (E) de la resazurina oxidada (azul) a 570 nm
- O2= E de resazurina oxidada a 600 nm
- A1 = absorbancia de pocillos de prueba a 570 nm
- A2 = absorbancia de pocillos de prueba a 600 nm
- P1 = absorbancia de pocillos de control de crecimiento positivo (células más resazurina pero ningún agente citotóxico) a 570 nm
- P2 = absorbancia de pocillos de control de crecimiento positivo (células más resazurina pero ningún agente citotóxico) a 600 nm

Se calcula además el IC<sub>50</sub> de cada muestra a diferentes tiempos mediante una ecuación de regresión no lineal.

### **3.7 Análisis de la relación entre la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa.**

Para este análisis se verifica primero el supuesto de normalidad de los datos con la prueba de Shapiro Wilk por ser menos de 50 datos, dependiendo de este resultado se mide la correlación de los resultados de las tres pruebas con el test de Pearson (paramétrico) o Spearman (no paramétrico), esta correlación se mide para cada muestra (extractos y fracciones) y se escoge a los que presenten un R<sup>2</sup> cercano o mayor a 0.9 para realizar la prueba de Regresión lineal, con la cual se determina una posible ecuación que relaciona y predice la actividad citotóxica en función de la actividad antioxidante o antiinflamatoria; para esto se usa el programa estadístico GraphPad Prism 5.

## CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Presentación, análisis, interpretación y discusión de resultados

En los siguientes análisis de datos, se utilizará la siguiente leyenda:

<i>Buddleja incana</i>	BI
<i>Pipper aduncum</i>	Pa
<i>Dracontium spruceanum</i> (hojas)	Dh
<i>Dracontium spruceanum</i> (cormo o cormo)	Dc
Extracto Metanólico	Mo
Fracción Hexánica	Hx
Fracción Clorofórmica	Cl
Fracción Acetato de Etilo	Ac
Fracción Remanente	M3

#### 4.1.1 Análisis y discusión de los resultados de la extracción

**Tabla 4.** Rendimiento de la extracción metanólica a partir de las muestras secas

Nombre científico	Nombre común	código usado	droga utilizada	cantidad (g)	macerado en (mL)	extracto seco (g)	% Rendimiento
<b><i>Buddleja incana</i></b>	Quishuar	BI	hojas	2632.95	5000	32.122	1.22
<b><i>Piper aduncum</i></b>	Matico	PA	hojas	1057.64	5000	28.186	2.665
<b><i>Dracontium spruceanum</i></b>	Jergón sachá	Dh	hojas	1109.81	5000	40.064	3.61
		Dc	cormo	742.373	5000	17.52	2.36

Se observa un mayor rendimiento para las hojas de Jergón sachá y el menor rendimiento para las hojas de Quishuar, esto considerando las extracciones sucesivas.

**Tabla 5** Porcentaje de las fracciones con respecto al extracto original.

Fracciones		BI	PA	Dh	Dc
<b>Hx</b>	peso inicial	32.12	28.19	40.06	17.52
	volumen inicial (mL)	200.00	150.00	250.00	200.00
	volumen para extracción	2400.00	1800.00	3000.00	2400.00
	peso extraído	3.57	4.19	6.93	0.70
	% fracción Hx respecto al Mo	11.10	14.85	17.30	4.00
	Peso restante del extracto inicial	28.56	24.00	33.13	16.82
	Kd Mo/Hx	96.06	68.78	57.37	288.34
<b>Cl</b>	peso inicial	28.56	24.00	33.13	16.82
	volumen inicial (mL)	200.00	150.00	250.00	200.00
	volumen para extracción	2000.00	2000.00	2000.00	2000.00
	peso extraído	2.81	14.60	8.01	1.10
	% fracción Cl respecto al Mo	8.76	51.81	19.99	6.27
	Peso restante del extracto inicial	25.74	9.39	25.12	15.72
	Kd Mo/Cl	91.51	8.58	25.09	143.17
<b>Ac</b>	peso inicial	25.74	9.39	25.12	15.72
	volumen inicial (mL)	200.00	150.00	250.00	200.00
	volumen para extracción	2000.00	2000.00	2000.00	2000.00
	peso extraído	5.89	0.66	2.72	0.33
	% fracción Ac respecto al Mo	18.35	2.33	6.79	1.91
	Peso restante del extracto inicial	19.85	8.74	22.40	15.39
	Kd Mo/Ac	33.68	177.44	65.89	460.01
<b>M3</b>	peso hx+cl+ac	12.27	19.45	17.66	2.13
	peso inicial	19.85	8.74	22.40	15.39
	volumen inicial (mL)	200.00	15.00	250.00	200.00
	volumen para extracción	2000.00	2000.00	2000.00	2000.00
	peso extraído	19.85	8.74	22.40	15.39
	% fracción M3 respecto al Mo	61.79	31.00	55.92	87.83

Interpretar Kd como coeficiente de reparto.

En la tabla 3 se presenta el peso inicial de la fracción hexánica, el cual corresponde con el peso obtenido en el extracto metanólico (Tabla 2), se reporta el volumen en el cual fue redissuelto el extracto metanólico seco, y el volumen de extracción (hexano), los 2000 mL son producto de 10 extracciones con 200 mL cada una, se muestra el peso extraído producto de la

concentración de la fase hexánica y con estos datos se obtiene el porcentaje que representa la fracción hexánica con respecto al extracto metanólico con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Fracción} = (\text{Peso extraído} / \text{Peso inicial}) \times 100$$

Este valor resulta importante, más que expresar un valor de rendimiento, el obtener todos los porcentajes de las fracciones con respecto al extracto que les dio origen, permite estimar la proporción en que posiblemente se encontrarán los componentes de determinada fracción dentro del extracto original y por ende predecir la actividad funcional que debería tener el extracto original después de haber calculado la actividad por separado de una fracción, por ejemplo si se determina la ecuación matemática que determina la actividad citotóxica de la fracción hexánica en función a la concentración, podría entonces estimarse el porcentaje de citotoxicidad a la concentración que se estimó estaría contenida en el extracto inicial y por ende proponer un posible valor de citotoxicidad en el extracto inicial, claro está que el extracto inicial deberá su efecto no solo a la presencia de la fracción hexánica, sino también de las demás fracciones, como se conocería la ecuación de la curva de cada fracción y la concentración que cada una representaría dentro del extracto inicial, podría suponerse que la actividad citotóxica sería una suma de todos los valores obtenidos por regresión, sin embargo si se obtuviera datos bastante distantes del estimado, podría suponerse que al estar todas las fracciones mezcladas en el extracto inicial existen interacciones entre metabolitos que generen inhibición o sinergismo de los efectos. (Ahmad & Salim, 2015)

Por otra parte, se reporta el coeficiente de distribución ( $K_d$ ), obtenido del volumen inicial a ser extraído y del volumen del solvente de extracción, junto con el peso inicial y el peso extraído, mediante la siguiente fórmula: (Harwood & Moody, 1990)

$$K_d (a/b) = \frac{(\text{Peso inicial} - \text{peso extraído}) / \text{volumen de solvente a}}{(\text{peso extraído}) / \text{volumen de solvente de extracción b}}$$



El valor agregado que aporta el cálculo del Kd es saber los volúmenes de solvente de extracción necesarios para obtener una determinada cantidad de extracto seco o cantidad de sólido de una fracción específica. Además permite conocer la tendencia de solubilidad de los componentes en una extracto, por ejemplo si se calcula un Kd Mo/Hx (metanol en hexano) de 0.1 puede interpretarse que la mayoría de compuestos contenidos en el extracto metanólico inicial son de carácter apolar, puesto que un valor de Kd menor a la unidad y cercano de cero indica la preferencia de los solutos por el solvente de extracción, en este caso el hexano, estos valores serán corroborados de manera cualitativa en los ensayos de solubilidad.

**Tabla 6.** Rendimiento de las fracciones

	BI	PA	Dh	Dc
<b>%Fracción Hx</b>	11,105	14,855	17,297	3,995
<b>%Cl</b>	8,757	51,814	19,993	6,268
<b>%Ac</b>	18,345	2,330	6,789	1,909
<b>%M3</b>	61,793	31,001	55,921	87,828
<b>suma =</b>	100	100	100	100

#### 4.1.2 Análisis y discusión del análisis Fitoquímico

Se utilizará la siguiente leyenda:

Cantidad relativa de abundancia	Signo
No apreciable	-
Poco	+
Moderado	++
Abundante	+++

##### 4.1.2.1 Análisis y discusión del tamizaje Fitoquímico

Los resultados obtenidos consistieron en una serie de reacciones de precipitación y coloración los cuales se analizan en los siguientes cuadros:

**Tabla 7.** Análisis fitoquímico de la fracción “A”

Muestra	FeCl <sub>3</sub>	Gelatina	Shinoda
<i>Buddleja Incana</i>	+++	++	+++
<i>Pipper Aduncum</i>	+	+	+++
<i>Dracontium spruceanum</i> (hojas)	+++	+	++
<i>Dracontium spruceanum</i> (cormo o cormo)	-	-	+

En esta fracción puede apreciarse un alto contenido de compuestos fenólicos para BI y Dh, moderado contenido de taninos en BI y presencia de flavonoides en todas las plantas, siendo más abundantes en BI y PA.

**Tabla 8.** Análisis fitoquímico de la fracción “B”

Muestra	Bornträger	Liberman - Borchard	Legal	Carr Price
<i>Buddleja Incana</i>	-	+++	-	+
<i>Pipper Aduncum</i>	-	+++	-	-
<i>Dracontium spruceanum</i> (hojas)	-	++	-	+
<i>Dracontium spruceanum</i> (cormo)	+	+	-	-

En esta fracción puede apreciarse presencia de compuestos esteroidales  
En todas las plantas, y más abundantes en BI y PA

**Tabla 9.** Análisis fitoquímico de la fracción “C”

Muestra	Legal	Libermann - Borchard	Shinoda	Rosenheim	Mayer	Dragendorf	Kedde
<i>Buddleja Incana</i>	+	-	-	-	-	-	-
<i>Pipper Aduncum</i>	+	++	-	+	-	-	-
<i>Dracontium spruceanum</i> (hojas)	-	+	-	-	+	+	-
<i>Dracontium spruceanum</i> (cormo)	-	+	-	+	-	+	-

En esta fracción puede apreciarse ausencia de flavonoides en todas las muestras, se hace notoria la presencia de esteroides en el PA.

**Tabla 10.** Análisis fitoquímico de la fracción “D”

Muestra	Lega l	Mayer	Dragendorf	Kedde	Liberman n	Shinoda	Rosenheim
<i>Buddleja Incana</i>	-	-	-	+	++	++	+++
<i>Pipper Aduncum</i>	-	-	-	+	+	+	-
<i>Dracontium spruceanum</i> (hojas)	-	-	-	+	+	-	-
<i>Dracontium spruceanum</i> (cormo)	+	+	+	+	+	+	+

En esta fracción puede apreciarse las leucoantocianidinas en Bl, donde también se observa moderada cantidad de flavonoides y esteroides.

**Tabla 11.** Análisis fitoquímico de la Fracción “E”

Muestra	Shinoda	Rosenheim	Dragendorf	Mayer
<i>Buddleja Incana</i>	+	-	+	-
<i>Pipper Aduncum</i>	+	+	-	-
<i>Dracontium spruceanum</i> (hojas)	+	-	+	-
<i>Dracontium spruceanum</i> (cormo)	+	+	+	-

En esta última fracción puede apreciarse baja cantidad de los metabolitos.

**Tabla 12.** Prueba de la espuma en extracto acuoso

<i>Buddleja Incana</i>	<i>Pipper Aduncum</i>	<i>Dracontium spruceanum</i> hojas	<i>Dracontium spruceanum</i> cormo
++	+	+	-

En todas las muestras excepto el cormo de *Dracontium* se detecta saponinas.

**Tabla 13.** Resumen de las pruebas cualitativas de metabolitos secundarios

<b>Metabolito</b>	<b><i>Buddleja Incana</i></b>	<b><i>Pipper Aduncum</i></b>	<b><i>Dracontium spruceanum</i> hojas</b>	<b><i>Dracontium spruceanum</i> cormo</b>
<b>Polifenoles</b>	Presencia	Presencia	Presencia	No detectable
<b>Taninos</b>	Presencia	Presencia	Presencia	No detectable
<b>Flavonoides</b>	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
<b>Alcaloides</b>	No detectable	No detectable	Presencia	Presencia
<b>Esteroides</b>	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
<b>Glicósidos cardíacos</b>	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia
<b>Quinonas</b>	No detectable	No detectable	No detectable	Presencia
<b>Catequinas/ Leucoantoci anidinas</b>	Presencia	No detectable	Presencia	Presencia
<b>Lactonas</b>	Presencia	Presencia	No detectable	Presencia
<b>Vitamina A</b>	Presencia	No detectable	Presencia	No detectable
<b>Saponinas</b>	Presencia	Presencia	Presencia	No detectable

En este resumen se evidencia que los metabolitos encontrados son para:

Bl: polifenoles, esteroides, cardiotónicos, leucoantocianidinas, lactonas y saponinas

PA: polifenoles, esteroides, cardiotónicos, lactonas y saponinas

Dh y Dc: En hojas polifenoles, alcaloides, esteroides, cardiotónicos y catequinas, los mismos aparcan en el cormo excepto polifenoles y saponinas pero adicional hay quinonas y lactonas.

Los grupos de metabolitos reconocidos en esta marcha fitoquímica preliminar coinciden con los reportados por la literatura, en el caso del *Dracontium spruceanum* se coincide en el reporte de polifenoles, alcaloides, taninos (Jurado, 1993) y flavonoides, en este último caso se reportan en mayor cantidad en la zona de Lamas (Bocanegra, 2007), razón por la cual se prefirió esta zona para la recolección. El tamizaje para *Piper aduncum* reporta entre otros compuestos fenoles, taninos, flavonoides, esteroides y saponinas, pero a diferencia de (Vásquez, 2015) no se detectó alcaloides ni quinonas.

Para el caso de la *Buddleja incana* al igual que (Guamán, 2004) se encontró fenoles, catequinas, lactonas pero no se detectó quinonas.

#### 4.1.2.2 Análisis y discusión del ensayo de solubilidad

La solubilidad se reporta en los siguientes cuadros de acuerdo a la siguiente leyenda:

**Tabla 14.** Criterios para descripción de la solubilidad de extractos.

solubilidad		Observación	Notación	
<b>Solubilidad total</b>		No se observa el sólido	+++++	5+
<b>Solubilidad alta</b>		Se observan partículas muy pequeñas	++++	4+
<b>Solubilidad mediana</b>		El sólido disminuye de tamaño considerablemente	+++	3+
<b>Solubilidad baja</b>		El sólido disminuye su tamaño ligeramente	++	2+
<b>Solubilidad aparente</b>		El sólido no disminuye su tamaño pero el solvente se torna ligeramente de color	+	1+
<b>Insoluble</b>		No hay reducción de tamaño del sólido ni tinción del solvente	-	-
<b>Frio</b>	F			
<b>Caliente</b>	C			

**Tabla 15.** Solubilidades de los extractos metanólicos secos.

Solventes	Agua		Metanol		Etanol		Acetona		Acetato de etilo	
	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C
<b>Plantas</b>										
Dracontium loretense (Cormo)	+	+++	++++	++++	+	++	+	+	-	-
Dracontium loretense (Hoja)	+	+	+++	++++	++	++++	++	+++	+++	+++
Buddleja incana (Huanuco) (Hoja)	-	-	++++	++++	++	+++	-	++	+	+
Piper aduncum (Hoja)	-	-	++++	++++	+++	++++	+++	++++	+++	++++

Solventes	Cloroformo		n-Hexano		DMSO		Eter de petroleo		Benceno	
Plantas	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C
<b>Dracontium loretense (Cormo)</b>	-	-	-	-	++++	++++	-	+	-	-
<b>Dracontium loretense (Hoja)</b>	+++	++++	+++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++
<b>Budleja incana (Huanuco) (Hoja)</b>	-	-	-	+	++++	++++	-	+	-	-
<b>Piper aduncum (Hoja)</b>	++++	++++	+	+++	++++	++++	++	++	++++	++++

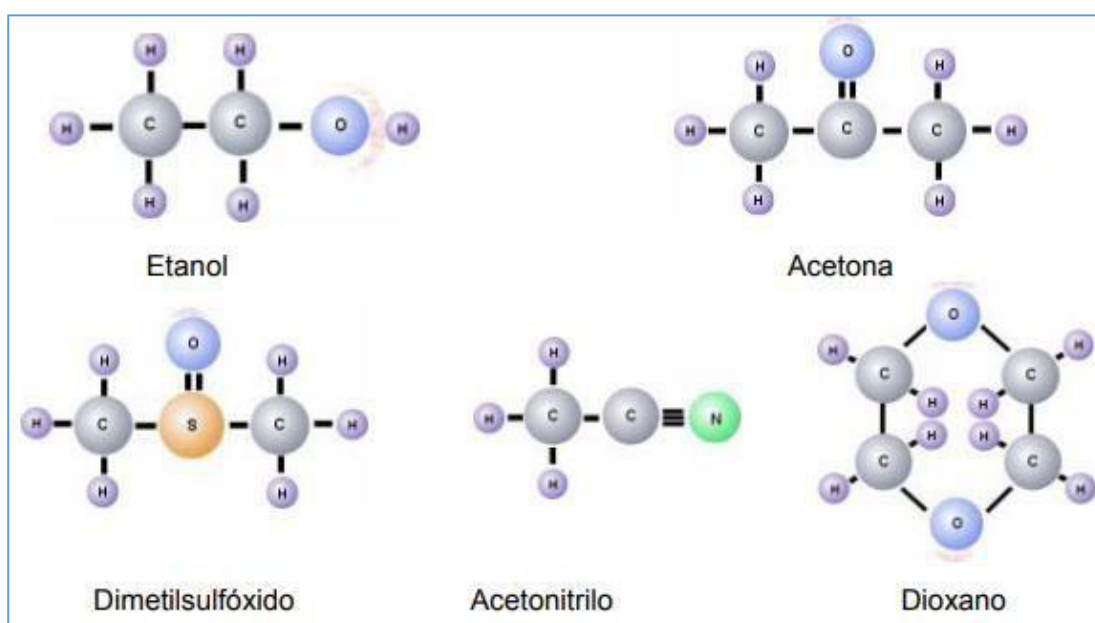
En el cuadro anterior se han sometido los extractos metanólicos secos a diferentes solventes teniendo en cuenta la serie eleutrópica de los mismos (Rondina & Palacios, 1991) se observa la tendencia de solubilidad de los extractos metanólicos tanto en solventes polares como apolares, el metanol es un solvente polar y casi en el extremo de la polaridad según la serie eleutrópica, sin embargo se evidencia que este extracto seco también puede disolverse en muchos casos en solventes como el hexano o cloroformo, solventes de naturaleza apolar, esto es posible a que el metanol es un solvente que cumple con tres características principales que le otorgan ese gran poder disolvente, primero es una molécula con grupo hidroxilo, este es un grupo funcional orgánico que está presente en la mayoría de compuestos presentes en las plantas desde los polifenoles hasta los esteroides, la gran mayoría presenta el radical hidroxilo, por afinidad química de funciones se puede lograr la solubilidad, otra característica es la de tener una polaridad similar a las sustancias que disolverá, esto le brinda al metanol capacidad de disolver compuestos polares pero no cumpliría para los compuestos apolares, y la tercera característica es que trata de una molécula pequeña, mientras

más pequeña la molécula es más sencillo que pueda ser soluble con otro compuesto (Núñez, 2008)

#### Figura 14. Solventes Universales

Estos solventes tienen grupos polares, presentan regiones apolares y polares y son pequeñas, lo que le da la facilidad de disolver una gran cantidad de compuestos (Fuente: (Núñez, 2008))

El metanol por tanto es capaz de arrastrar no solo compuestos polares solubles en metanol, si no también compuestos apolares, y más aún si la extracción se realizó con aumento de la temperatura y exposición a ondas de ultrasonido.



Así se puede describir la solubilidad del extracto metanólico de la *Buddleja incana* es soluble en metanol y DMSO, sin embargo no en solventes apolares, la solubilidad del extracto metanólico de *Piper aduncum* es mejor en solventes tanto polares como apolares desde el metanol hasta el hexano y en el caso del *Dracontium spruceanum* la solubilidad es mejor en solventes polares para el caso del cormo y general para el caso de las hojas, es decir tanto en solventes polares como apolares, cabe mencionar que estos resultados contrastan muy bien con los mencionado anteriormente sobre la capacidad del coeficiente de distribución ( $K_d$ ) para predecir la tendencia de solubilización (Cuadro N° 3), por ejemplo el  $K_d$  Mo/Cl del *Piper aduncum* es

de aproximadamente 8, mientras más cercano a la unidad significa que hay una gran afinidad por dicho solvente, y se puede apreciar que el extracto metanólico de *Piper aduncum* fue muy bien solubilizado con el cloroformo, por otra parte el Kd Mo/Ac del cormo de jergón sachá fue de 460, un número bastante alejado de la unidad por lo que es de esperarse que el extracto metanólico de cormo de Jergón no fuera soluble en Acetato de etilo.

**Tabla 16.** Solubilidad de fracciones en solventes apolares

Solventes	DMSO		n-Hexáno		Éter de petróleo		Benceno		Cloroformo		Cloruro de metileno		Acetona	
Códigos	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C
<b>Bi Mo</b>	4+	4+	2+	2+	2+	2+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
<b>Bi Hx</b>	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
<b>Bi Cl</b>	4+	4+	-	-	-	-	1+	2+	2+	3+	2+	3+	3+	3+
<b>Bi Ac</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3+	4+
<b>Bi M3</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Pa Mo</b>	4+	4+	1+	2+	1+	2+	4+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
<b>Pa Hx</b>	4+	4+	4+	5+	4+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
<b>Pa Cl</b>	4+	4+	1+	1+	1+	1+	2+	3+	3+	4+	3+	3+	3+	3+
<b>Pa Ac</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	3+	3+	3+	3+	3+	3+
<b>Pa M3</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Dh Mo</b>	4+	4+	3+	3+	3+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+
<b>Dh Hx</b>	4+	4+	4+	4+	4+	4+	5+	4+	5+	4+	5+	4+	5+	4+
<b>Dh Cl</b>	4+	4+	-	-	-	-	1+	3+	3+	4+	3+	3+	3+	3+
<b>Dh Ac</b>	4+	4+	-	-	-	-	1+	1+	1+	1+	1+	1+	3+	4+
<b>Dh M3</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Dc Mo</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+	-	-
<b>Dc Hx</b>	4+	4+	4+	5+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
<b>Dc Cl</b>	4+	4+	-	-	-	-	3+	4+	5+	5+	5+	5+	2+	3+
<b>Dc Ac</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Dc M3</b>	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

En esta tabla se puede apreciar que una determinada fracción es soluble en el solvente que le dio origen, es decir la fracción hexánica es soluble en hexáno, esto para el caso de las cuatro muestras, también se puede apreciar que las fracciones hexánicas y clorofórmicas son solubles en todos los solventes probados aquí (polaridad media a baja) solo hay algunos casos donde las fracciones clorofórmicas no son solubles en hexano, que es menos polar que el cloroformo (el caso de Bi y Dh), se evidencia que las fracciones de acetato de etilo y remanente que están cerca de una polaridad media ya



no resultan muy solubles a los solventes aquí probados, por otra parte se puede observar que todas las muestras fueron solubilizadas por el Dimetilsulfóxido (DMSO), esto debido a su grupo polar y pequeño tamaño.

**Tabla 17.** Solubilidad de fracciones en solventes polares

Solventes	Acetato de etilo		Metanol		Etanol		Alcohol n-propílico		Alcohol isopropílico		Alcohol n-butilico		Agua	
Códigos	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C
<b>Bi Mo</b>	2+	2+	2+	3+	2+	3+	2+	3+	3+	3+	2+	2+	3+	3+
<b>Bi Hx</b>	5+	5+	2+	3+	3+	4+	5+	5+	3+	4+	3+	3+	-	-
<b>Bi Cl</b>	3+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	5+	5+
<b>Bi Ac</b>	1+	1+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	2+	2+
<b>Bi M3</b>	-	-	3+	4+	1+	2+	1+	2+	1+	1+	-	-	4+	4+
<b>Pa Mo</b>	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	1+	1+
<b>Pa Hx</b>	5+	5+	5+	5+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	-	-
<b>Pa Cl</b>	2+	3+	4+	5+	3+	4+	3+	4+	3+	4+	3+	3+	2+	2+
<b>Pa Ac</b>	3+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	3+	5+	3+	5+	4+	5+
<b>Pa M3</b>	-	-	3+	4+	2+	2+	1+	1+	-	-	-	-	4+	4+
<b>Dh Mo</b>	5+	5+	5+	5+	4+	4+	4+	5+	4+	5+	4+	4+	2+	3+
<b>Dh Hx</b>	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	-	-
<b>Dh Cl</b>	2+	2+	5+	5+	4+	4+	3+	3+	3+	3+	3+	4+	4+	5+
<b>Dh Ac</b>	1+	1+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	2+	3+
<b>Dh M3</b>	-	-	3+	4+	2+	2+	1+	1+	1+	2+	1+	1+	3+	4+
<b>Dc Mo</b>	-	-	4+	4+	2+	3+	1+	2+	1+	2+	2+	3+	1+	1+
<b>Dc Hx</b>	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	-	-
<b>Dc Cl</b>	2+	4+	5+	5+	5+	5	5+	5+	5+	5+	5+	5+	2+	2+
<b>Dc Ac</b>	-	1+	5+	5+	2+	4+	2+	3+	2+	3+	3+	4+	3+	4+
<b>Dc M3</b>	-	-	3+	4+	2+	2+	1+	1+	1+	2+	1+	1+	3+	4+

En este cuadro se puede apreciar que la tendencia de las fracciones obtenidas es la de solubilizarse en solventes de polaridad media a alta.

De los resultados de solubilidad se decide escoger al DMSO como solvente inicial y al metanol como solvente de dilución para las posteriores pruebas *in vitro*.

#### 4.1.2.3 Análisis y discusión de los ensayos cromatográficos (CCF)

Se ensayaron varios solventes y mezclas de estos en diferentes gradientes, usando sembrando las muestras en el siguiente orden:

1: *Buddleja incana* proveniente de Huánuco (Bi Hu)

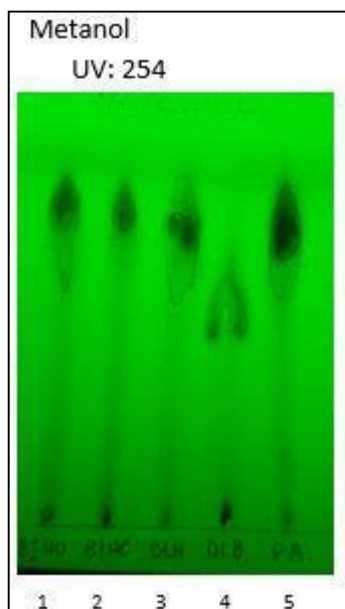
2: *Buddleja incana* proveniente de Huarochirí (Bi Ha) usado como una referencia

3: *Dracontium spruceanum* hojas

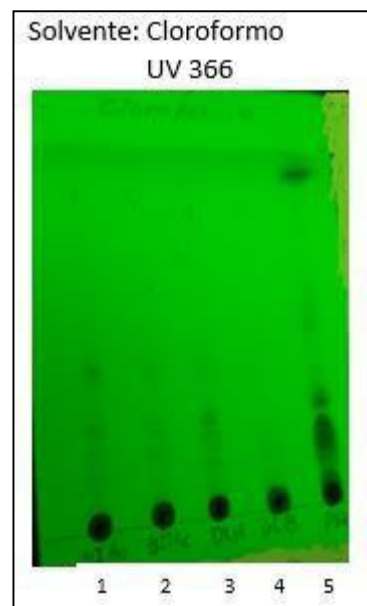
4: *Dracontium spruceanum* cormo

5: *Piper aduncum*

Los mejores resultados obtenidos fueron los siguientes:



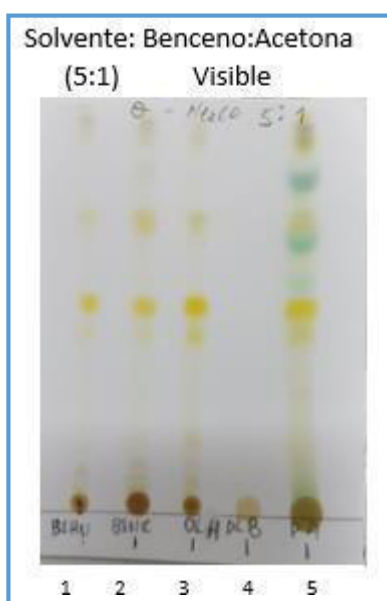
**Figura 15.** CCF con metanol



**Figura 16.** CCF con cloroformo

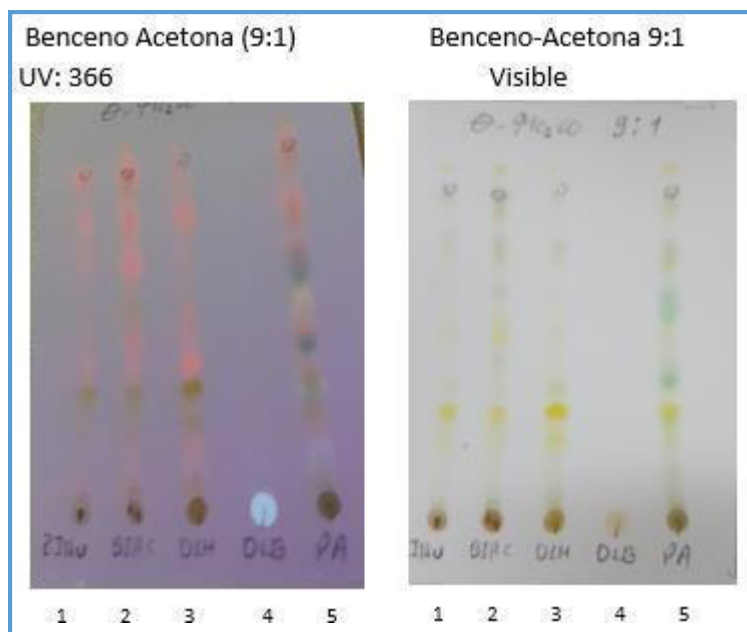
Extractos metanólicos en CCF usando como fase móvil metanol en la figura N° 15 y N° 16 y revelado a luz ultravioleta de onda corta (254 nm) se puede apreciar una sola mancha que recorre casi la misma distancia para todas las muestras en la parte superior de la placa; por otro lado, cuando se usa utiliza cloroformo como fase móvil se evidencia a longitud larga (366 nm) una mejor resolución, es decir mejor separación de los componentes, pero con menor desplazamiento. Esto puede ser explicado pues al tratarse de un extracto metanólico la mayoría del componente son solubles en metanol, por eso son arrastrados con más facilidad por la fase móvil, cuando esta es el metanol, sin embargo, todos los componentes son tan solubles y afines con el metanol que son arrastrados rápidamente y no da lugar a una separación, por esto las manchas se observan en la parte superior, pero sin separación. se debe observar también que en el caso del cormo de jergón no se distingue mancha alguna con la fase móvil de cloroformo.

Por otra parte, cuando se usa cloroformo como fase móvil se evidencia una menor afinidad de los componentes (en su mayoría polares) por el cloroformo que es apolar, esto permite que se den otro tipo de interacciones entre los analitos y la fase estacionaria, interacciones que dependerán de la polaridad y peso específicos de cada molécula, por tanto, se pueden separar mejor (Harwood & Moody, 1990), está claro que este esquema conlleva un poco más de tiempo, pues se trata de una cromatografía en fase normal. En los resultados obtenidos se puede observar que el *Piper aduncum* (Pa) tiene menor resolución que las demás plantas y además se aprecia una mancha en la parte superior, suponiendo que esta puede tratarse de compuestos apolares en una cantidad significativa, datos que coinciden con el coeficiente de reparto y las pruebas de solubilidad. De este análisis se continúan las pruebas con mezclas donde la mayor proporción debe ser un solvente apolar, pero conteniendo un solvente de mediana polaridad para mejorar la resolución.



**Figura 17.** CCF con mezcla de solventes

En esta imagen se observa una mejor separación de los compuestos, aquí se utilizó una mezcla de benceno: acetona (5:1), pudiendo notar que aparentemente el *Piper aduncum* (Pa) tiene mayor cantidad de compuestos, los cuales se evidencia a luz visible, nótese también que el corno nuevamente no genera manchas, lo que también se corresponde con su coeficiente de distribución  $K_d$  Mo/Cl de 143, lo que evidencia que no presenta compuestos solubles en cloroformo.



**Figura 18.** CCF con mezcla de solventes y mejor resolución

En esta prueba se aumentó la proporción de benceno para mejorar la separación, obteniendo a esta proporción Benceno: Acetona (9:1) los mejores resultados, se puede apreciar que el *Piper aduncum* revela tanto a la luz visible como a la luz ultravioleta de onda larga un mínimo de 10 manchas apreciables, igual caso en el Quishuar y en las hojas de Jergón, pero nuevamente no se evidencia un desplazamiento en el caso del corno de Jergón.

Estas pruebas son útiles para tener una idea de la mínima cantidad de compuestos que puede contener un extracto, y sobre todo para escoger un sistema de solventes que se pueda emplear en posteriores fraccionamientos.

### 4.1.3 Análisis y discusión de los resultados de actividad antioxidante

#### 4.1.3.1 Análisis y discusión de resultados en el método DPPH·

Después de obtener las absorbancias y reprocesar con la fórmula en el programa Excel 2016 se obtuvieron los porcentajes de actividad antioxidante

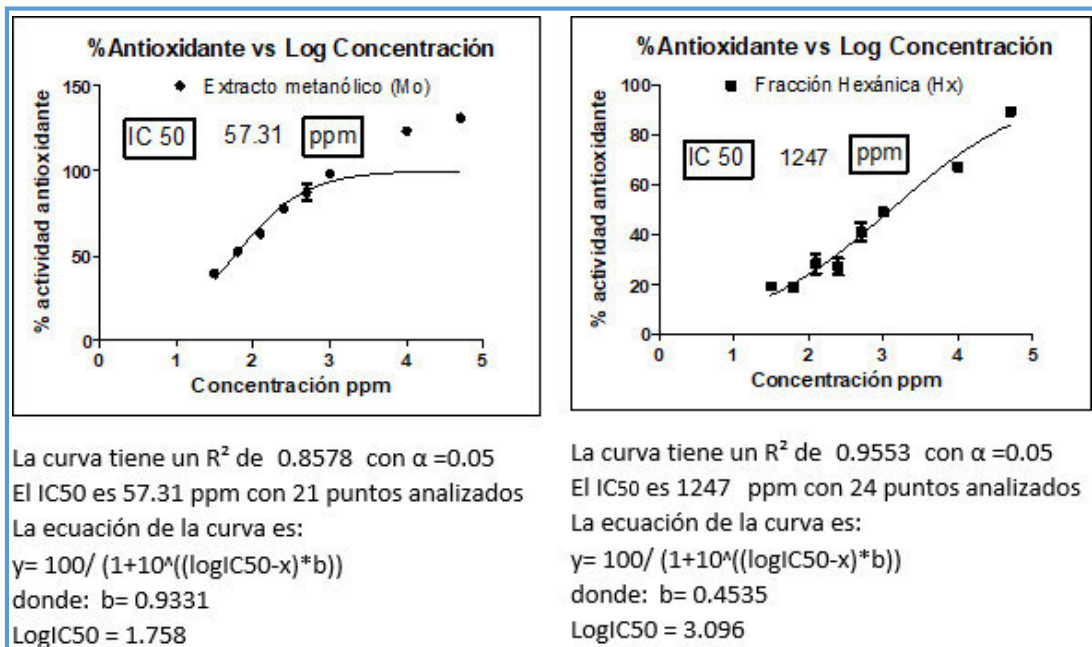
#### *Buddleja incana* (Quishuar Bi)

**Tabla 18.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Buddleja incana* y sus fracciones

Muestras	Repetición	Concentración en ppm							
		50000	10000	1000	500	250	125	62.5	31.25
Mo	1	130,850	121,961	99,477	79,608	78,562	67,582	51,373	41,961
	2	131,373	124,575	96,340	95,294	78,562	60,784	53,464	37,778
	3	131,373	124,052	99,477	86,928	76,993	60,784	52,418	38,824
Hx	1	86,928	66,013	47,712	36,209	23,137	36,209	18,954	16,340
	2	90,065	66,536	51,373	38,301	34,118	22,614	18,431	21,046
	3	91,111	69,150	48,758	48,758	24,706	26,797	18,954	20,523
Cl	1	116,732	94,771	100,000	92,680	69,150	54,510	44,575	41,961
	2	108,889	96,340	93,725	86,405	73,856	55,556	40,915	31,503
	3	113,072	94,771	96,340	91,634	73,856	55,556	44,575	33,595
Ac	1	93,725	92,680	94,118	93,595	93,203	98,954	94,771	87,974
	2	93,203	93,725	94,118	94,641	94,771	99,477	95,294	92,157
	3	94,771	94,771	95,163	95,163	93,725	97,908	93,725	84,837
M3	1	97,386	100,000	96,863	96,340	96,340	70,065	51,765	32,549
	2	100,000	97,386	96,863	93,725	94,771	72,680	50,719	41,961
	3	95,294	96,340	93,725	92,680	95,294	75,294	53,333	35,163

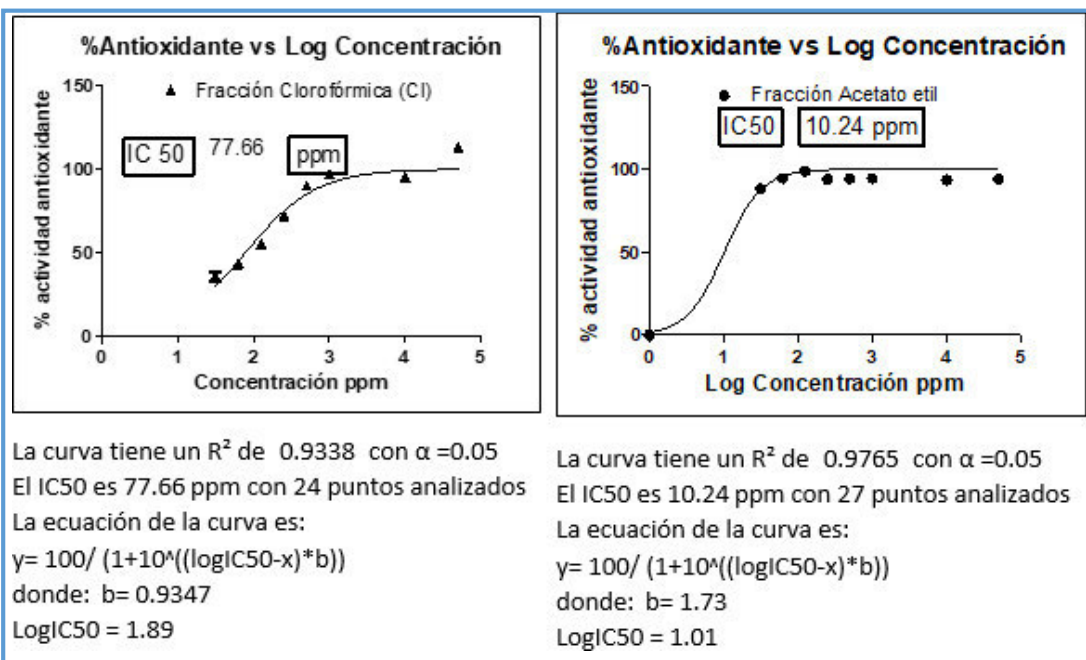
En este cuadro se puede apreciar que hay un aumento de la capacidad antioxidante conforme se eleva la dosis, en el caso de la fracción de acetato de etilo parece que la concentración no afectara el poder antioxidante, sin embargo puede que se requiera menos concentración para evidenciar la influencia de la concentración en la dosis, debe considerarse que la concentración mínima probada fue de 31,25 ppm por lo que resulta evidente que la fracción de acetato de etilo tiene un gran poder antioxidante, también se observa que hay porcentajes que superan el 100 %, esto debido a que al descontar la absorbancia de las muestras con las de los blancos muestras quedan valores negativos, esto puede ocurrir por interferencias muy variables como pigmentos que pueden tener las plantas (Guija-Poma, Inocente-Camones, Ponce-Pardo, & Zarzosa-Norabuena, 2015), sin embargo si no hay influencia del reactivo DPPH· residual después de la reacción con el extracto se entiende que ejerció un poder antioxidante del 100%. Todas las

concentraciones analizadas y por triplicado se utilizan para obtener los valores de la concentración a la que ejerce un 50 % de decoloración (IC<sub>50</sub>) los cuales se determinan usando el programa estadístico GraphPad Prism 5 y sometiéndolos a un análisis de regresión no lineal con una transformación de



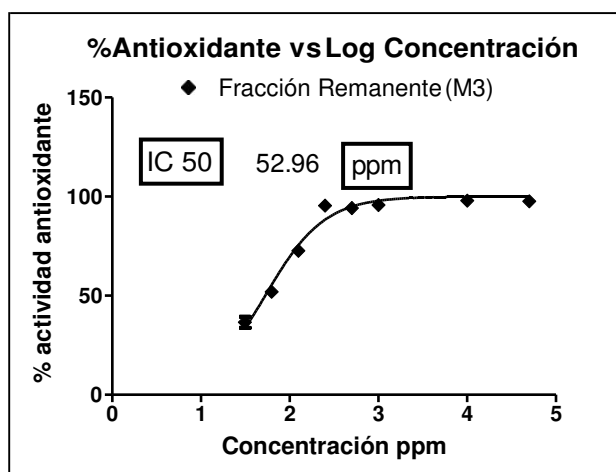
los valores de concentración a su forma logarítmica y un ajuste de la repuesta a su forma normalizada con pendientes variables, obteniendo los siguientes resultados:

**Figura 19.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Buddleja incana* **Figura 20.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Buddleja incana*



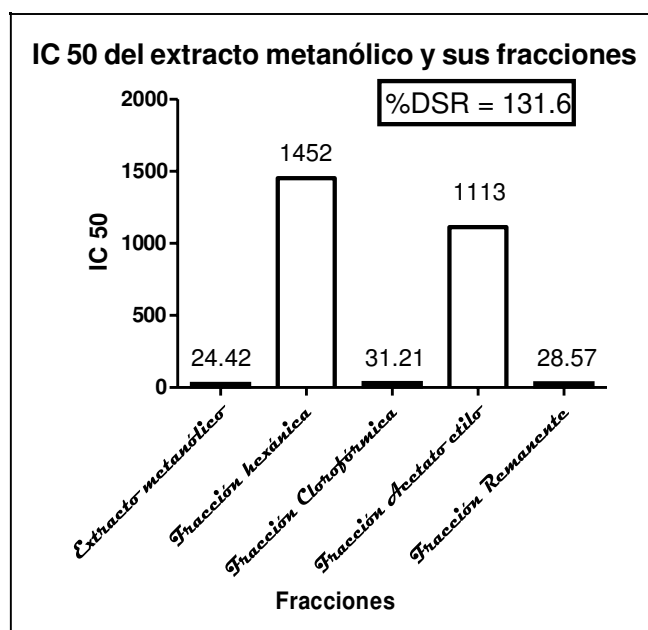
**Figura 21.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Buddleja*

**Figura 22.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Buddleja*



La curva tiene un  $R^2$  de 0.9689 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 52.96 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.303$   
 $\log IC_{50} = 1.724$

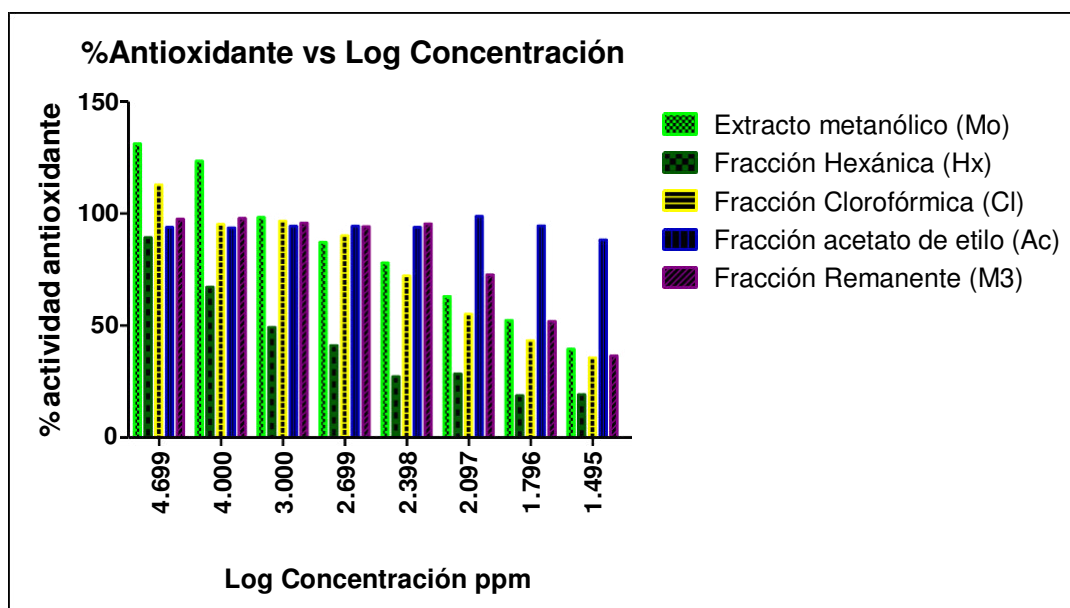
**Figura 23.** Gráfica de regresión de La fracción remanente de *Buddleja*



**Figura 24.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Bi con sus fracciones

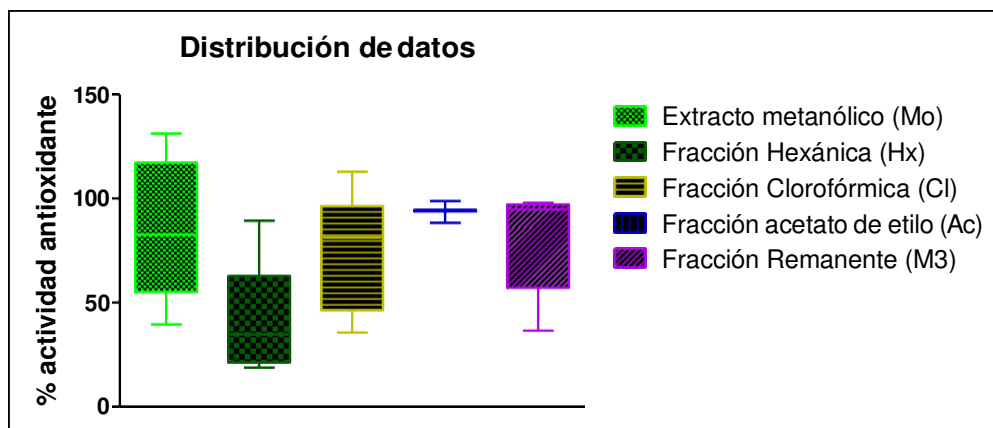
En esta gráfica se comparan los IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Y sus fracciones, donde los valores más bajos indican que se requiere menor cantidad de muestra para lograr la inhibición del 50% de radicales libres, valores de IC<sub>50</sub> mayores a 1000 ppm denotan una actividad muy pobre o nula. Se muestra el valor de la desviación estándar relativa el cual es de 131.6%, lo que se interpreta como una gran variación entre los IC<sub>50</sub> comparados, dejando en claro que las actividades antioxidantes de las fracciones varían entre ellas considerablemente.





**Figura 25.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción a diferentes concentraciones.

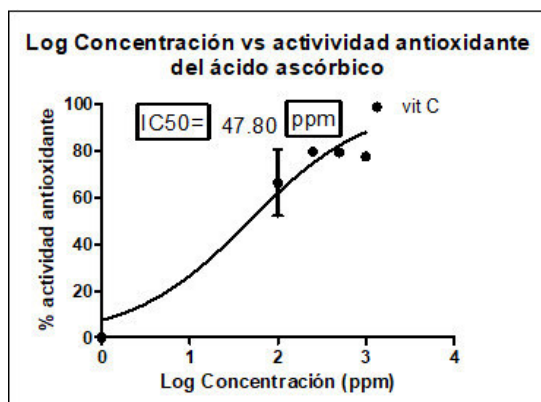
En esta gráfica se observa la variación de la actividad antioxidante en cada fracción según la concentración estudiada, se hace el análisis con el logaritmo de la concentración para hacer más evidente la variación. Puede notarse que la fracción de Acetato de etilo (azul) mantiene un máximo de actividad a todas las concentraciones probadas, lo que pone de manifiesto ser la mejor fracción en este sentido, también se observa que la fracción remanente (morado) es la que le seguiría en eficacia, pues se mantiene casi constante en un máximo de poder antioxidante hasta la concentración de 125 ppm donde empieza a decrecer; esto puede ser explicado pues en estas fracciones con acetato de etilo y Remanente(metanol) se caracterizan de las demás por ser las más polares del grupo de fracciones y por tanto es muy probable que hayan arrastrado compuestos también de naturaleza polar, entre ellos los flavonoides, puestos que son compuestos que se extraen con solventes polares de preferencia (Meneses-Reyes, Soto-Hernández, Espinosa-Solares, & Ramírez-Guzmán, 2008), se debe recordar que en las pruebas fitoquímicas se evidenció que el Quishuar contenía una gran cantidad de estos compuestos, y es conocido que esta familia de compuestos son muy eficaces como moléculas captadoras de radicales libres y por tanto evidencian marcada actividad antioxidante (Tremel & Šmejkal, 2016)



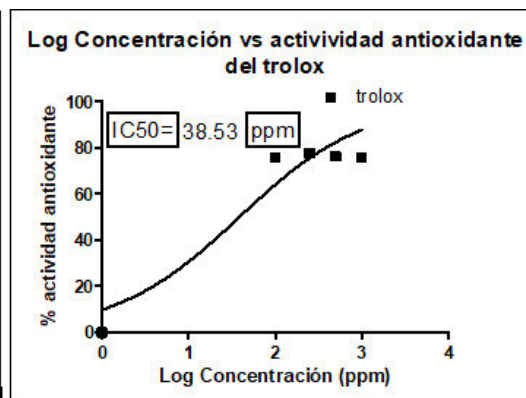
**Figura 26.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para la *Buddleja incana*

En este gráfico se puede observar la distribución de los datos de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones, separados en cuartiles, donde la fracción de Acetato de etilo es la que resalta más al observar que todos sus valores están distribuidos cerca del 100% de actividad a cualquier concentración probada, caso contrario en eficacia puede notarse la caja correspondiente a la fracción hexánica tiene la mayoría de sus datos distribuidos en valores antioxidantes de 50% a menos para las concentraciones testadas.

Por otro lado, el análisis se realizó en comparación con controles positivos analizados bajo las mismas condiciones que las muestras, se utilizó dos controles de referencia, el ácido ascórbico y el trolox a concentraciones de 1000, 500, 250 y 100 ppm, calculando el  $IC_{50}$  con el mismo reproceso que las muestras.

**Figura 27.** IC<sub>50</sub> del ácido ascórbico

La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.9145 con  $\alpha=0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 47.8 ppm con 10 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.6532$   
 $\log IC_{50} = 1.679$

**Figura 28.** IC<sub>50</sub> del trolox

La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.9091 con  $\alpha=0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 38.53 ppm con 10 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.6049$   
 $\log IC_{50} = 1.586$

Aquí se muestra los valores de IC<sub>50</sub> de los controles son cantidades pequeñas como es de esperarse, sin embargo, si se compara con los resultados obtenidos con el extracto metanólico de *Buddleja incana* y sus fracciones de Acetato de etilo y Remanente puede notarse que sus valores son muy cercanos e incluso ligeramente menores, es decir el extracto metanólico de Quishuar presenta una actividad antioxidante igual o mejor comparada con sustancias puras como la vitamina C y el trolox.

Es por tanto común expresar en muchos estudios de actividad antioxidante los resultados en unidades de equivalentes trolox (Ayeleso, Joseph, Oguntibeju, & Mukwevho, 2018), en este caso también puede hacerse, se mencionará un ejemplo, el extracto metanólico de quishuar presenta un IC<sub>50</sub> de 57,31 ppm, es decir a esta concentración inhibe el 50% de los radicales libres en esta prueba, este mismo efecto lo logra el trolox con 38,53 ppm, es decir menor concentración, lo que podría traducirse como una potencia un poco mayor frente al quishuar, entonces se puede decir que El IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de Quishuar es de 38,53 µg/mL equivalentes trolox, como la expresión de equivalentes trolox se hace para una determinada concentración del extracto, y aquí se usó 10 concentraciones, es más efectivo expresar de una sola concentración, el IC<sub>50</sub>, por este motivo la expresión de los extractos metanólicos y todas sus fracciones de todas las plantas

estudiadas en el presente trabajo en equivalentes trolox será siempre la misma: El  $IC_{50}$  de la muestra es de 38,53  $\mu\text{g/mL}$  equivalentes trolox y también puede decirse que es de 47,8  $\mu\text{g/mL}$  equivalentes de ácido ascórbico, aunque esta expresión no suele usarse. Sin embargo la expresión en equivalentes trolox puede variar, debido a que el trolox debe analizarse bajo las mismas condiciones que las muestras, pero no todos los investigadores que realizan pruebas antioxidantes trabajan de la misma manera, siempre hay variaciones que conllevan a obtener resultados distintos (Guija-Poma et al., 2015), lo cual dificultaría el contrastar resultados de actividad antioxidante expresados en equivalentes trolox con otros estudios donde se reporten de la misma manera; en tal sentido resultaría más eficaz expresar los resultados en capacidad antioxidante relativa ( $\%Ca_r$ ) donde se compara la proporción entre la actividad antioxidante de una muestra frente al control positivo (Kuskoski et al., 2005), aunque las condiciones de laboratorio varíen, se entiende que la proporción de la capacidad antioxidante entre una muestra y el control debe mantenerse casi constante.

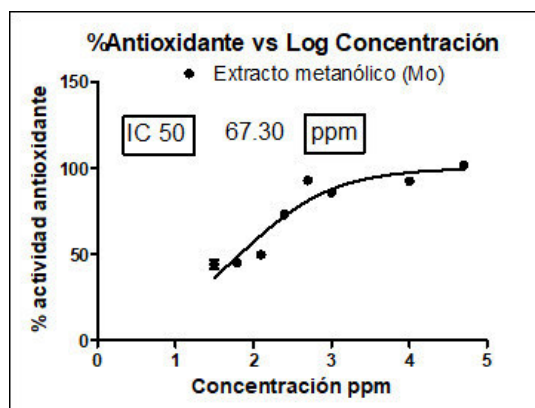
Para expresar los resultados en base a la capacidad antioxidante relativa se divide el valor del  $IC_{50}$  del control entre el  $IC_{50}$  de la muestra y se multiplica por 100, el  $IC_{50}$  del control se coloca en el numerador, pues al tratarse de una sustancia pura se esperaría que presente mayor potencia antioxidante y por tanto menor valor de  $IC_{50}$ , por lo tanto poner el  $IC_{50}$  del control en el numerador esperaría valores de capacidad antioxidante menores que 100 y cuando el valor de  $Ca_r$  sea mayor que 100% evidenciará fácilmente que la potencia de la muestra es mayor con respecto al control y este puede elevarse sin ningún tope superior. Cabe mencionar que los presentes resultados serán expresados en base a su capacidad antioxidante, pero en la subsección 4.1.3.3 “comparación de los resultados obtenidos por DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot$ ”.

***Piper aduncum* (*Piper aduncum*: Pa)****Tabla 19.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Piper aduncum* y sus fracciones

Muestras	Repetición	Concentración en ppm							
		50000	10000	1000	500	250	125	62.5	31.25
Mo	1	102,092	92,680	85,752	93,203	75,948	52,418	48,235	45,098
	2	101,569	90,588	85,229	91,634	72,288	49,281	43,529	48,235
	3	101,046	93,725	86,275	93,725	71,242	47,712	43,529	39,346
Hx	1	138,693	92,157	51,373	39,869	30,458	31,503	33,595	28,889
	2	133,464	87,451	47,190	31,503	29,935	27,843	29,412	22,614
	3	116,209	89,020	37,778	33,072	28,366	26,797	25,752	23,660
Cl	1	102,092	98,954	96,340	92,680	73,856	50,850	46,536	36,209
	2	100,523	98,954	95,817	92,680	78,039	49,281	48,105	39,869
	3	101,046	95,294	94,771	92,680	73,856	53,464	58,562	39,346
Ac	1	93,725	90,588	83,137	94,771	95,817	96,863	74,379	57,124
	2	91,634	93,203	85,229	96,340	95,817	95,817	77,516	58,170
	3	92,157	93,725	86,797	96,340	95,294	95,294	77,516	60,261
M3	1	74,902	91,111	90,065	82,745	35,686	22,092	18,431	10,588
	2	91,634	91,634	90,588	74,902	35,163	21,569	15,817	9,542
	3	90,065	93,203	89,542	61,830	34,641	22,614	15,294	13,203

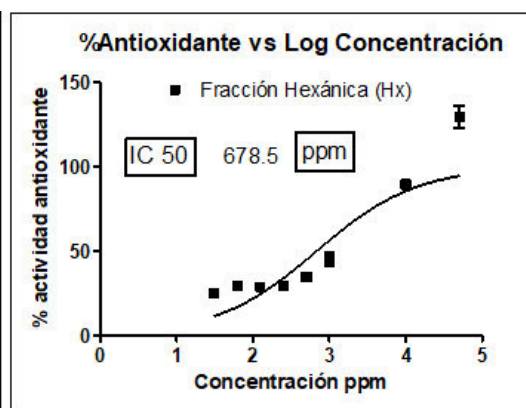
En este cuadro se puede apreciar que hay un aumento de la capacidad antioxidante conforme se eleva la dosis, en el caso de la fracción de acetato de etilo al igual que en el caso del Quishuar mantiene la mayoría de sus 50% para arriba a todas las concentraciones probadas, disminuyendo a partir de 62,5 ppm, la explicación de este comportamiento puede deberse a la presencia de compuestos polares como se explicó anteriormente pero en este caso las fracciones clorofórmica y hexánica si muestran valores altos de actividad antioxidante, se debe recordar que esta planta tanto en el coeficiente de reparto como en el ensayo de solubilidad y las pruebas en cromatografía en capa fina demostró tener una gran cantidad de compuestos de naturaleza apolar, por tanto es posible que entre estos compuestos se encuentren carotenoides los cuales evidencian una marcada actividad antioxidante (Jørgensen & Skibsted, 1993) y son compuestos de naturaleza apolar, por lo que fácilmente pueden haber sido arrastrados por el hexano y cloroformo, además se debe recordar que en las pruebas fitoquímicas se encontró compuestos esteroideos en gran cantidad, los cuales también pueden ser responsables de la marcada actividad antioxidante de estas fracciones, como los esteroides triterpénicos (Sahidin et al., 2014).

Los valores de IC<sub>50</sub> son calculados igual que el Quishuar.



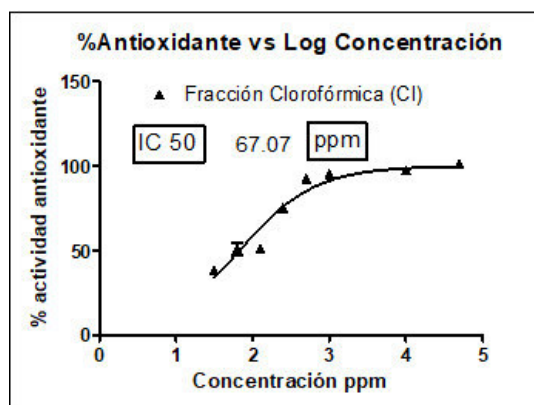
La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.897 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 67.3 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.7211$   
 $\log IC_{50} = 1.828$

**Figura 29.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Piper aduncum*



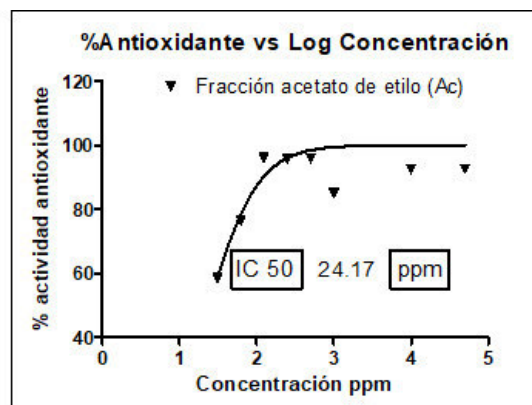
La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.8037 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 678.5 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.6628$   
 $\log IC_{50} = 2.832$

**Figura 30.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Piper aduncum*



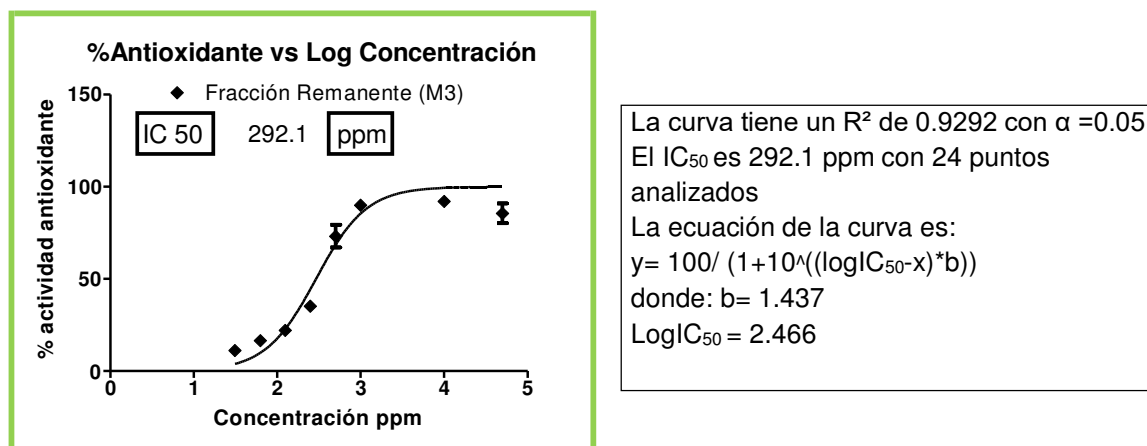
La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.9344 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 67.07 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.8741$   
 $\log IC_{50} = 1.827$

**Figura 31.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Piper aduncum*

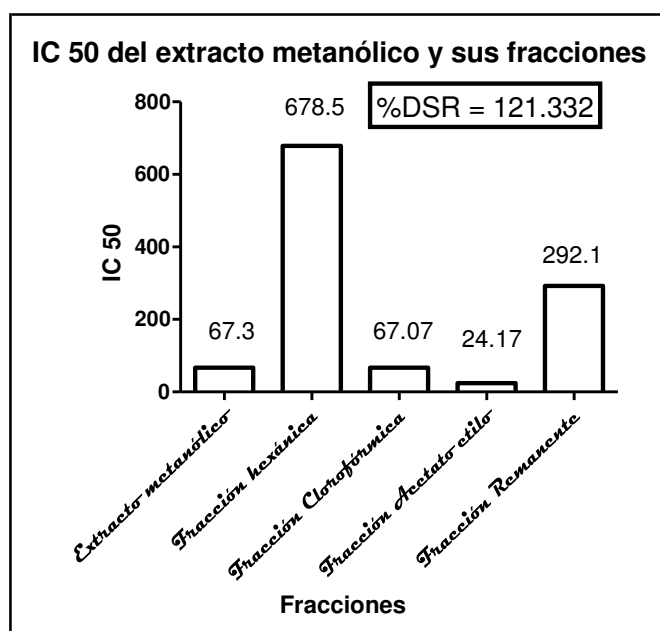


La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.6992 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 24.17 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.357$   
 $\log IC_{50} = 1.383$

**Figura 32.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Piper*

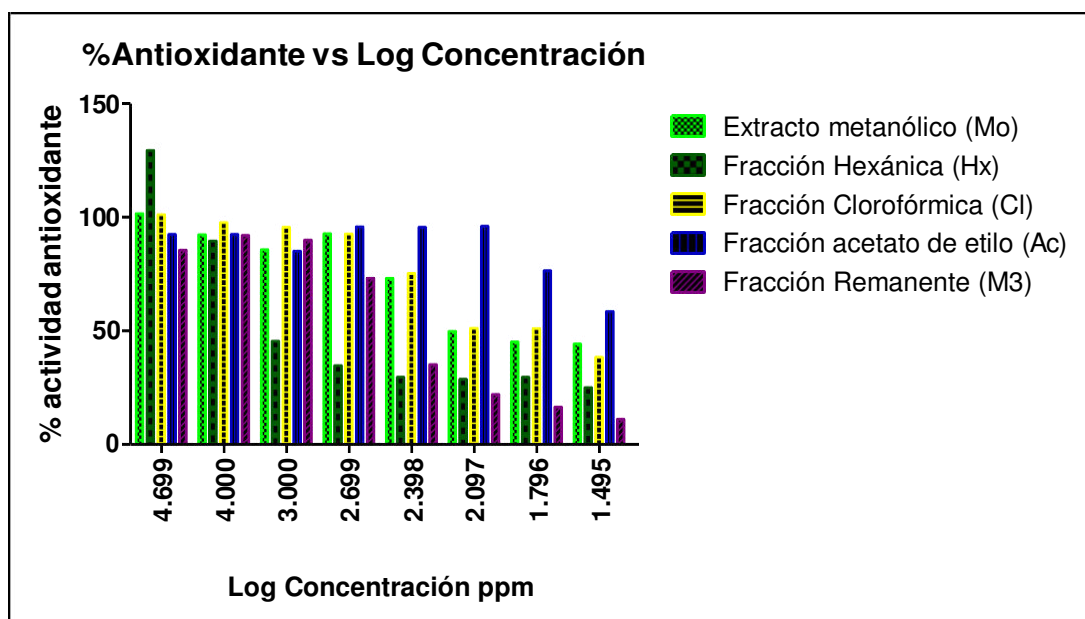


**Figura 33.** Gráfica de regresión de la fracción remanente de *Piper*

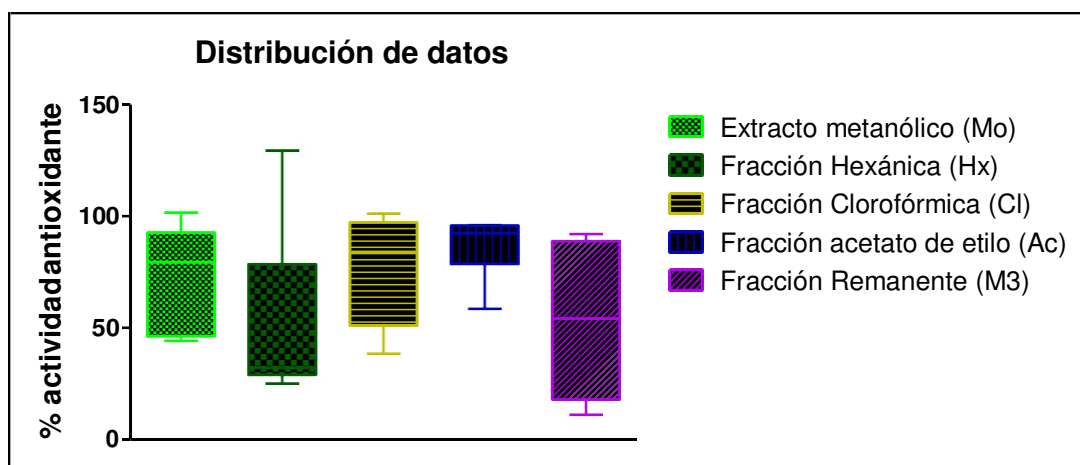


**Figura 34.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Pa con sus fracciones

En esta gráfica se comparan los IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Y sus fracciones, se observa que la fracción hexánica y remanente son las menos eficaces en comparación con las otras, pues tienen un IC<sub>50</sub> mayor de 1000 ppm, mientras que las demás muestran valores de IC<sub>50</sub> cercanos a los controles positivos.



**Figura 35.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Pa a diferentes concentraciones. En esta gráfica se observa la variación de la actividad antioxidante en cada fracción según la concentración estudiada, se hace el análisis con el logaritmo de la concentración para hacer más evidente la variación. Puede notarse que la fracción de Acetato de etilo (azul) mantiene un máximo de actividad y recién empieza a decrecer a la concentración de 62.5 ppm.



**Figura 36.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para el *Piper aduncum*

En este gráfico se puede observar la distribución de los datos de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones, separados en cuartiles, donde la fracción de Acetato de etilo es la que resalta más al observar que todos sus valores están distribuidos entre el 50 y el 100% de actividad a



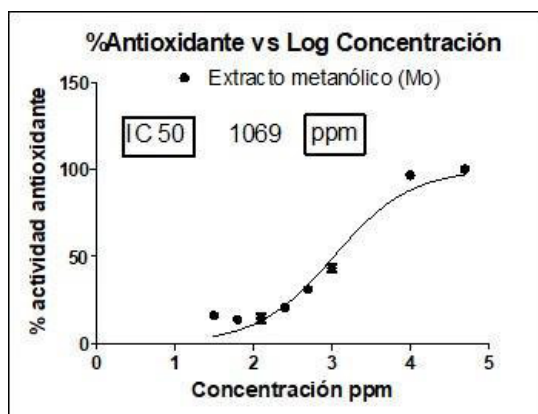
cualquier concentración probada, caso contrario en eficacia puede notarse la caja correspondiente a la fracción remanente donde sus datos están distribuidos en la escala del 1 al 100%.

***Dracontium spruceanum* (Jergón sachá- hojas: Dh)**

**Tabla 20.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* hojas y sus fracciones

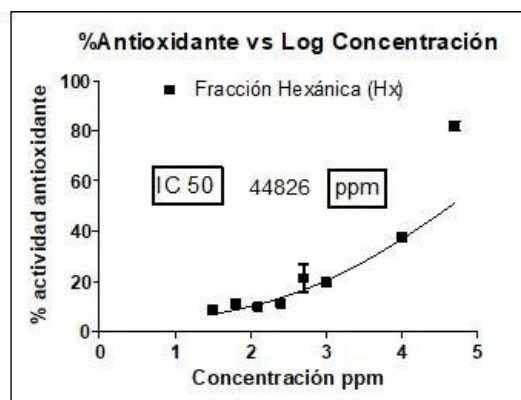
Muestras	Repetición	Concentración en ppm							
		50000	10000	1000	500	250	125	62.5	31.25
Mo	1	99,477	95,294	38,301	30,458	19,477	10,065	10,588	14,248
	2	99,477	96,340	44,052	30,980	20,523	13,725	12,680	15,817
	3	101,046	98,431	47,190	31,503	22,092	19,477	17,908	17,908
Hx	1	85,359	38,824	18,431	15,294	11,634	8,497	10,588	8,497
	2	80,654	34,641	19,477	16,340	9,542	9,542	10,588	7,451
	3	79,608	39,346	20,523	32,026	12,680	11,634	12,157	10,065
Cl	1	106,797	98,431	66,536	25,752	20,000	17,386	13,725	10,588
	2	106,275	102,614	66,013	25,752	20,523	18,431	15,817	11,111
	3	110,458	108,366	68,105	25,229	22,092	17,908	11,634	9,020
Ac	1	97,386	95,817	75,425	48,758	34,118	21,046	18,431	16,863
	2	97,386	93,725	82,222	53,464	38,301	22,614	17,386	17,908
	3	96,863	93,725	80,654	50,327	33,072	25,229	22,614	21,046
M3	1	94,771	92,680	57,647	37,255	34,118	32,549	23,660	38,301
	2	93,203	92,680	57,124	37,778	30,458	26,275	17,908	14,248
	3	90,588	92,157	53,464	39,346	33,072	30,980	32,026	14,248

En este cuadro se puede apreciar que hay un aumento de la capacidad antioxidante conforme se eleva la dosis, en el caso de la fracción de acetato de etilo es la que sigue mostrando mejores resultados en comparación de las demás fracciones, pero ya no alcanza valores tan altos como las plantas estudiadas anteriormente. A continuación, se muestran las gráficas del cálculo de IC<sub>50</sub>.



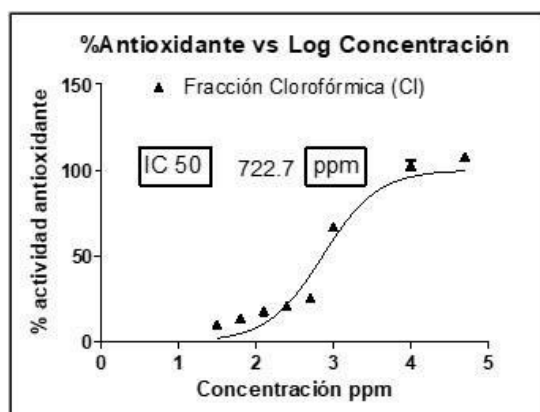
La curva tiene un  $R^2$  de 0.9621 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 1069 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.8871$   
 $\log IC_{50} = 3.029$

**Figura 37.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Dracontium Spruceanum* hojas



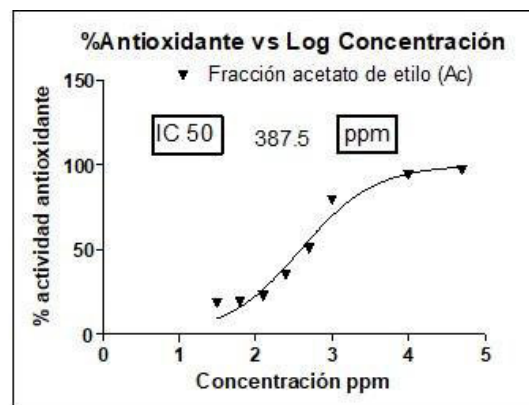
La curva tiene un  $R^2$  de 0.9567 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 44826 ppm con 20 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.3605$   
 $\log IC_{50} = 4.652$

**Figura 38.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Dracontium Spruceanum* hojas



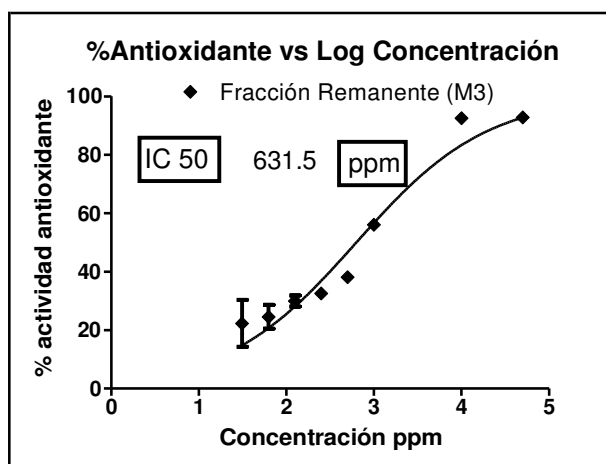
La curva tiene un  $R^2$  de 0.9508 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 722.7 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.218$   
 $\log IC_{50} = 2.859$

**Figura 39.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Dracontium Spruceanum* hojas



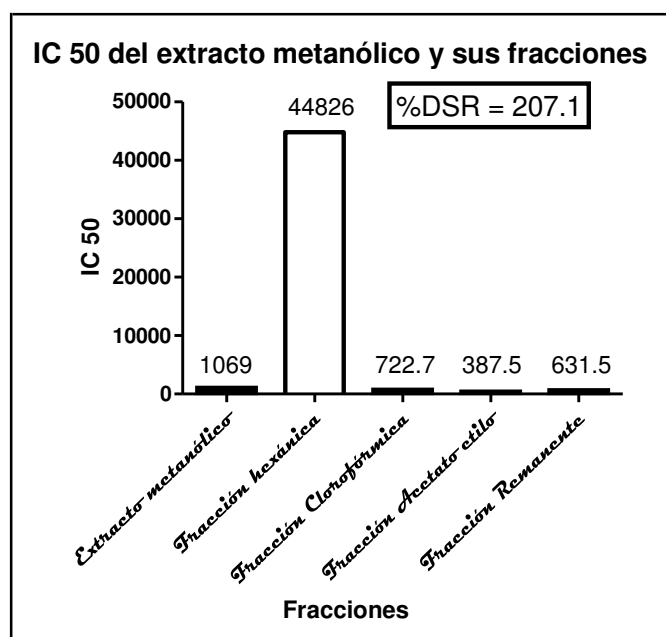
La curva tiene un  $R^2$  de 0.9651 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 387.5 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.8958$   
 $\log IC_{50} = 2.588$

**Figura 40.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Dracontium Spruceanum* hojas



**Figura 41.** Gráfica de regresión de La fracción remanente de *Dracontium spruceanum* hojas

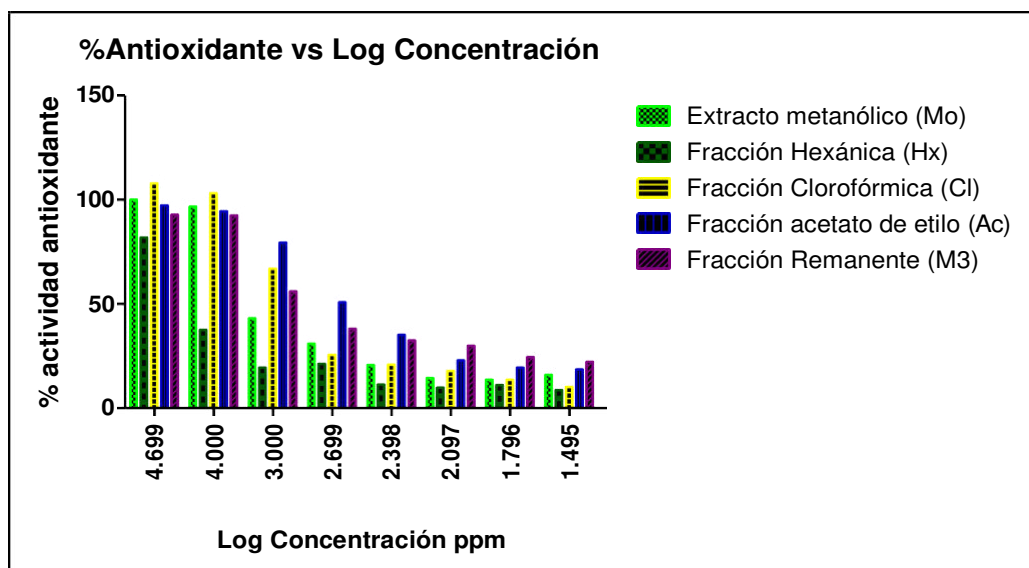
La curva tiene un  $R^2$  de 0.9299 con  $\alpha = 0.05$   
 El  $IC_{50}$  es 31.5 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.5821$   
 $\log IC_{50} = 2.8$



**Figura 42.** Comparación del  $IC_{50}$  del extracto metanólico Dh con sus fracciones

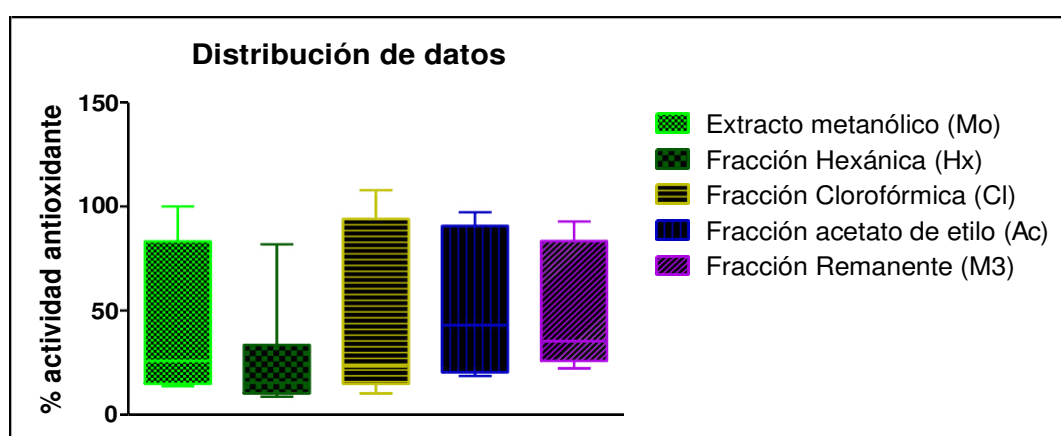
En esta gráfica se comparan los  $IC_{50}$  del extracto metanólico y sus fracciones, donde se pone de manifiesto que los valores obtenidos con respecto a las plantas anteriores son más altos, es decir posee mucho menos capacidad antioxidante que las plantas anteriores, también puede observarse que la

fracción hexánica prácticamente carece de sustancias antioxidantes pues es notoria la diferencia con las demás fracciones.



**Figura 43.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción Dh a diferentes concentraciones.

En esta gráfica se observa la variación de la actividad antioxidante en cada fracción según la concentración estudiada, se hace el análisis con el logaritmo de la concentración para hacer más evidente la variación. Puede notarse que todas las fracciones se comportan de esta manera, incluida la fracción de Acetato de etilo que en las plantas anteriores mostraba menor tendencia a disminuir su poder antioxidante con la concentración, es notorio que a 1000 ppm todas las fracciones empiezan a decrecer en actividad.



**Figura 44.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para la *Dracontium spruceanum* hojas

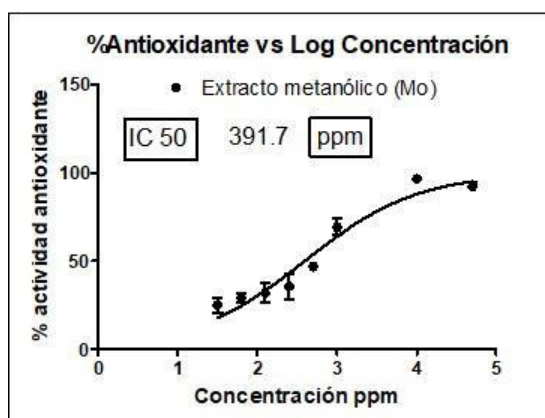
En este gráfico se puede observar una amplia distribución en todo el rango antioxidante de 0 a 100% a excepción de la fracción hexánica, el cual muestra la mayor cantidad de sus datos en el rango un rango menor de 50%, lo cual denota su pobre poder antioxidante.

***Dracontium spruceanum* (Jergón sachá- cormo: Dc)**

**Tabla 21.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* cormo y sus fracciones

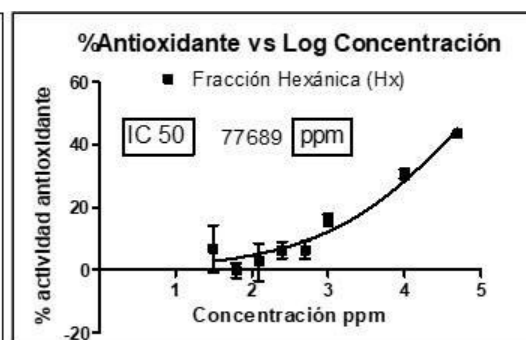
Muestras	Repetición	Concentración en ppm							
		50000	10000	1000	500	2 <sub>50</sub>	125	62.5	31.25
Mo	1	87,451	96,340	69,673	50,327	49,281	42,484	30,980	30,980
	2	93,203	95,294	76,993	47,190	34,118	23,660	32,549	27,320
	3	95,817	97,908	60,784	43,007	23,137	29,412	23,660	16,863
Hx	1	44,575	30,980	13,072	1,569	2,222	-0,915	-3,529	17,386
	2	43,529	27,843	15,163	5,752	5,359	-5,621	4,314	10,588
	3	41,961	33,072	19,346	11,503	11,111	14,248	-1,438	-7,712
Cl	1	78,039	95,817	90,065	80,131	77,516	60,261	56,601	49,281
	2	85,359	89,542	90,065	75,425	49,281	51,373	54,510	59,216
	3	85,359	87,451	90,065	83,268	55,033	46,667	48,235	51,895
Ac	1	94,248	91,111	76,471	56,993	27,843	24,706	11,634	7,451
	2	92,157	93,725	38,824	54,902	33,072	31,503	14,248	9,020
	3	95,817	93,203	76,471	52,288	28,889	25,752	11,111	4,837
M3	1	94,248	83,791	25,229	16,863	10,588	4,183	4,837	2,745
	2	95,294	82,222	28,889	17,386	11,634	7,843	5,882	4,837
	3	96,340	86,928	24,706	16,340	13,203	7,320	5,359	13,203

En este cuadro nuevamente se aprecia a la fracción hexánica como la menos potente, es más pierde su poder antioxidante a una concentración de 125 ppm.



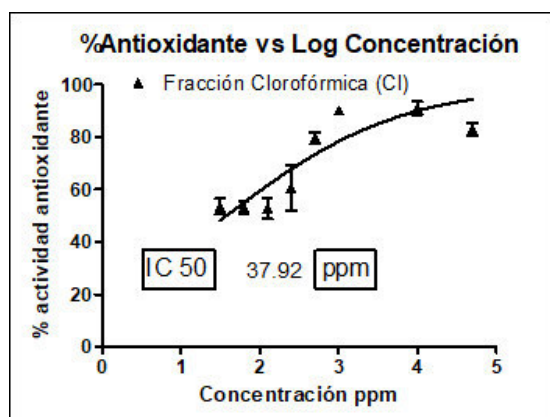
La curva tiene un  $R^2$  de 0.9039 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 391.7 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.6103$   
 $\log IC_{50} = 2.593$

**Figura 45.** Gráfica de regresión del

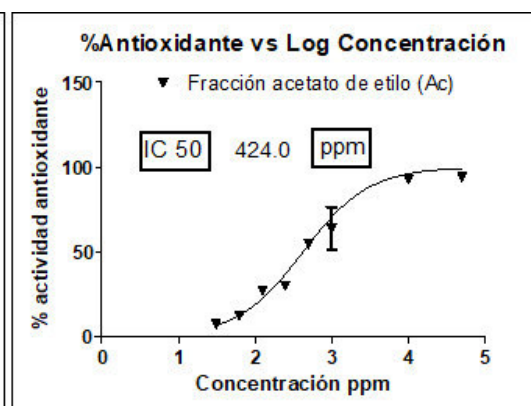


La curva tiene un  $R^2$  de 0.8372 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 77689 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.4534$   
 $\log IC_{50} = 4.89$

**Figura 46.** Gráfica de regresión de



La curva tiene un  $R^2$  de 0.6882 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 37.92 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.3921$   
 $\log IC_{50} = 1.579$

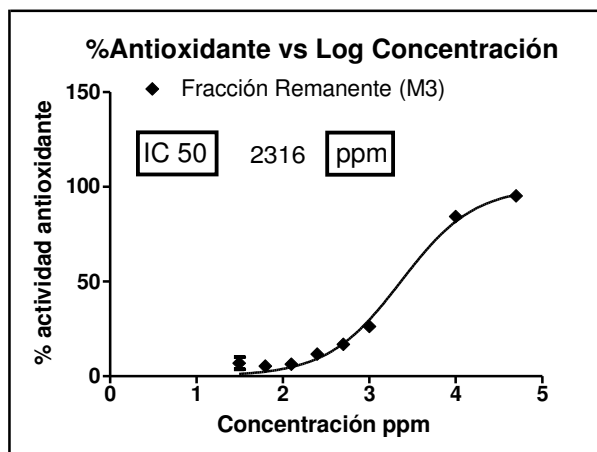


La curva tiene un  $R^2$  de 0.9809 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 424 ppm con 23 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.01$   
 $\log IC_{50} = 2.627$

**Figura 47.** Gráfica de regresión de la

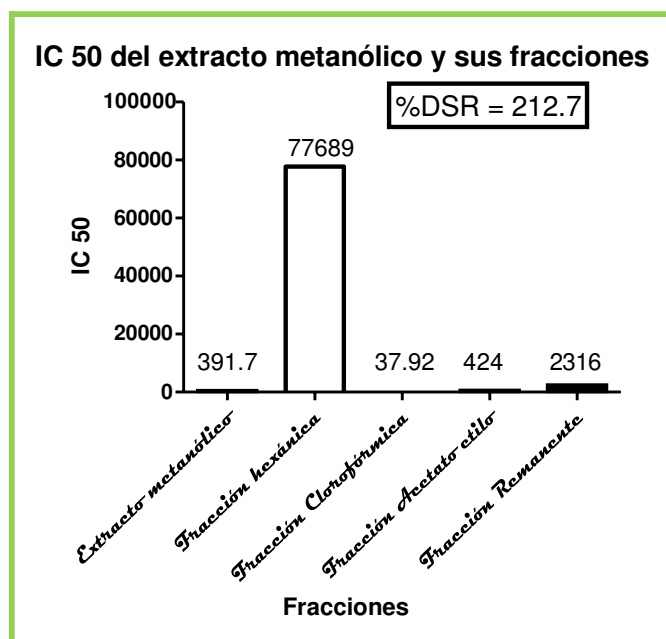
**Figura 48.** Gráfica de regresión de la

Fracción Clorofórmica de *Dracontium cormo* Fracción Acetato de etilo de *Dracontium cormo*



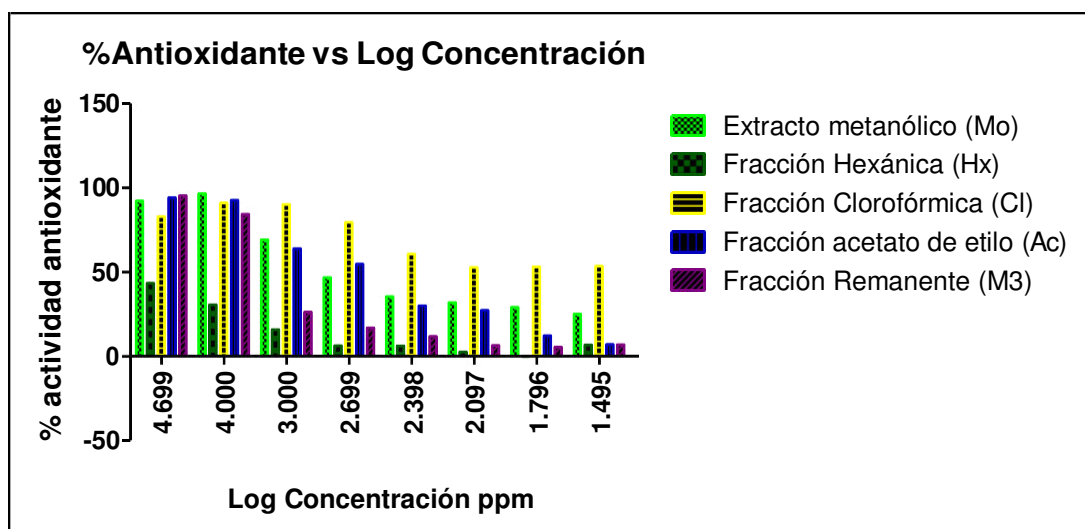
**Figura 49.** Gráfica de regresión de la fracción remanente de *Buddleja cormo*

La curva tiene un  $R^2$  de 0.9892 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 2316 ppm con 24 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.021$   
 $\log IC_{50} = 3.365$

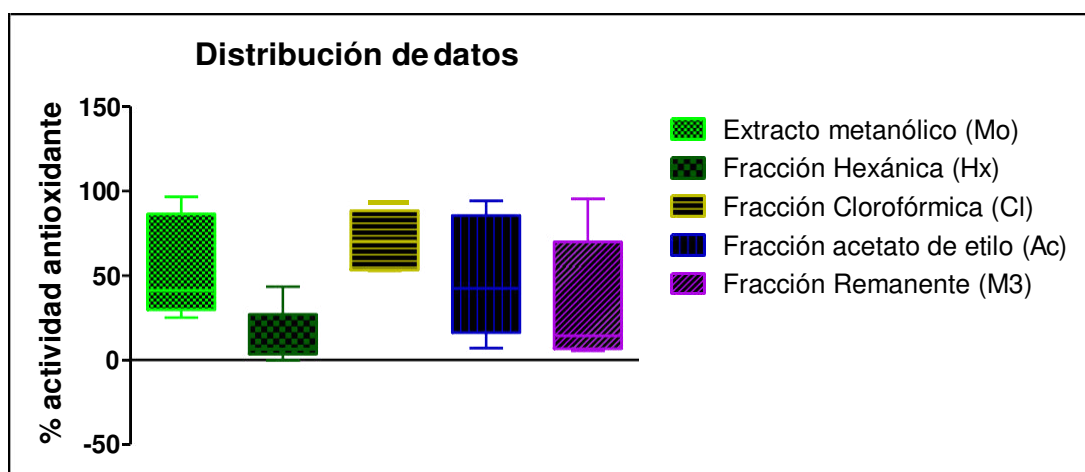


**Figura 50.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Dc con sus fracciones

En esta gráfica se comparan los IC<sub>50</sub> del extracto metanólico del corno de jergón sachá y sus fracciones, donde se evidencia que los valores están por encima de 100 ppm, es más la fracción hexánica proyecta un IC<sub>50</sub> de 77689, en otras palabras carece de actividad, sin embargo llama la atención la fracción clorofórmica, que presenta una actividad similar los obtenidos por *Buddleja incana* y mejor que los controles positivos, dejando entrever que el corno de Jergón Sachá debe contener algún compuesto de naturaleza lipofílica muy potente, se puede entender que es potente puesto muestra una potente acción antioxidante incluso a concentraciones de 7 ppm, se entiende que debe tratarse de un compuesto de naturaleza lipófila, sin embargo en la cromatografía de capa fina no desarrolló manchas visibles, por lo que se entiende que no posee compuestos lipófilos o estos no son detectables pues se encuentran en trazas, que sería el caso del corno; podría tratarse de oxilipinas las cuales están contenidas en el corno de jergón (Benavides et al., 2009) y se ha descrito su potencial como antioxidante (Gabbs, Leng, Devassy, Monirujjaman, & Aukema, 2015) estos compuestos son de naturaleza lipófilan al igual que otros relacionados con las oxilipinas y también presentes en el corno de Jergón Sachá como ceramidas, cerebrósidos y ácidos grasos polihidroxiados insaturados (Benavides et al., 2008).



**Figura 51.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Dc a diferentes concentraciones. En esta gráfica se observa la variación de la actividad antioxidante en cada fracción según la concentración estudiada, sin embargo, en la fracción hexánica se observa cómo se mantiene su actividad sin verse muy afectada por la variación en la concentración.



**Figura 52.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para la *Dracontium spruceanum* como

Este gráfico permite diferenciar al extracto metanólico y fracción clorofórmica del resto de fracciones, pues se observa que la mayor cantidad de datos están distribuidos en un rango superior al 50% de actividad antioxidante a cualquier concentración probada, la caja amarilla correspondiente a la fracción clorofórmica es la más comprimida de todas lo que se interpreta que todos los valores de la actividad antioxidante oscilan entre 50 y 100% a cualquier concentración.



#### 4.1.3.2 Análisis y discusión de resultados en el método ABTS<sup>•</sup>.

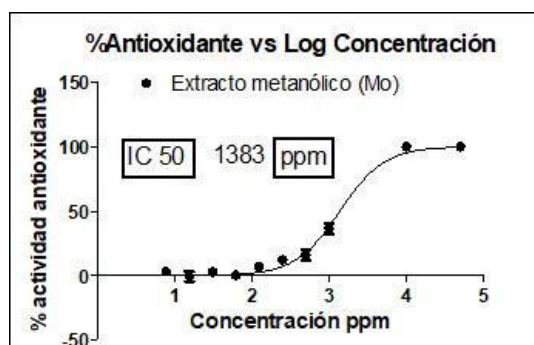
Los datos de absorbancias fueron procesados en Excel 2016 y se calculó las curvas de regresión no lineal ajustando las respuestas a una escala normalizada con pendientes variables, esto con ayuda del programa GraphPad Prism 5. Los resultados son los siguientes:

##### ***Buddleja incana* (Quishuar: Bi)**

**Tabla 22.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Buddleja incana* y sus fracciones

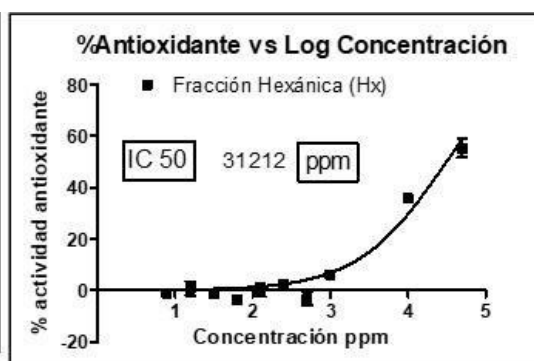
Muestras	repetición	Concentración en ppm									
		50000	10000	1000	500	2 <sub>50</sub>	125	62.5	31.25	15.625	7.8125
<b>Mo</b>	1	99,688	100,000	28,660	12,1 <sub>50</sub>	11,215	5,919	0,623	6,854	-2,181	3,785
	2	100,312	100,000	38,629	11,215	10,903	5,607	-2,492	0,000	-6,542	3,470
	3	100,000	100,000	41,745	23,988	14,642	9,034	2,492	1,558	6,231	1,893
<b>Hx</b>	1	54,829	33,022	5,296	-5,607	0,935	-4,361	-6,231	-4,050	-3,738	-3,115
	2	49,221	35,514	5,919	2,181	4,361	4,0 <sub>50</sub>	-2,804	1,558	5,607	-0,935
	3	61,994	38,629	6,854	-5,919	2,492	0,312	-2,492	-1,246	0,623	0,312
<b>Cl</b>	1	98,630	97,808	61,370	38,356	24,384	18,630	15,342	18,904	14,247	11,233
	2	97,534	98,356	61,644	42,466	20,548	15,068	11,233	13,425	8,767	6,849
	3	95,890	97,260	56,712	46,027	19,726	16,438	12,329	10,685	13,151	6,849
<b>Ac</b>	1	97,534	98,082	98,082	63,014	39,452	23,014	10,959	9,315	10,137	10,685
	2	97,260	97,534	98,356	67,671	42,466	23,014	10,137	9,589	9,315	4,658
	3	94,521	97,534	98,082	84,110	36,164	21,096	4,384	5,753	6,849	2,740
<b>M3</b>	1	98,267	96,040	58,911	36,386	26,485	19,802	13,861	11,881	20,297	16,832
	2	97,772	95,545	55,693	36,634	27,970	23,762	10,396	14,851	19,059	16,584
	3	98,762	95,545	59,406	32,921	24,010	18,069	14,604	10,891	17,822	15,594

En este cuadro se observa que el efecto antioxidante aumenta con la concentración, y se aprecia que este efecto es menor en la fracción hexánica, igual que los resultados obtenidos con DPPH<sup>•</sup>, sin embargo, a diferencia del método por DPPH<sup>•</sup> donde se evidenciaba actividad en todas las concentraciones, por el método ABTS<sup>•</sup> se puede apreciar que el efecto desaparece a una concentración de 62.5 ppm.



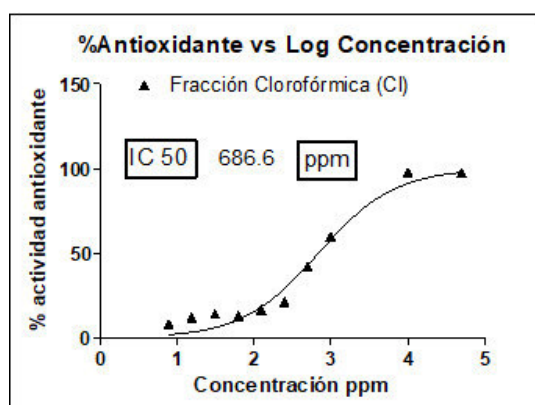
La curva tiene un  $R^2$  de 0.986 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 1383 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{-(\log IC_{50} - x) * b})$   
 donde:  $b = 1.51$   
 $\log IC_{50} = 3.141$

**Figura 53.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Buddleja incana*



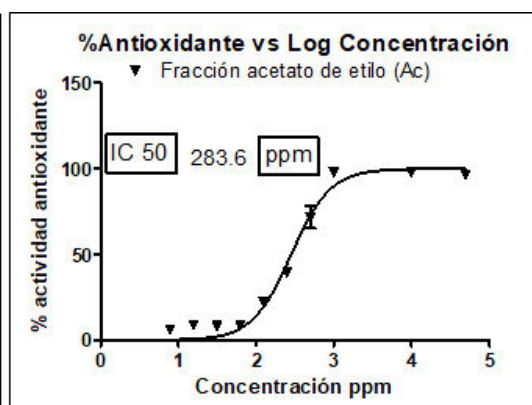
La curva tiene un  $R^2$  de 0.941 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 31212 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{-(\log IC_{50} - x) * b})$   
 donde:  $b = 0.7581$   
 $\log IC_{50} = 4.494$

**Figura 54.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Buddleja*



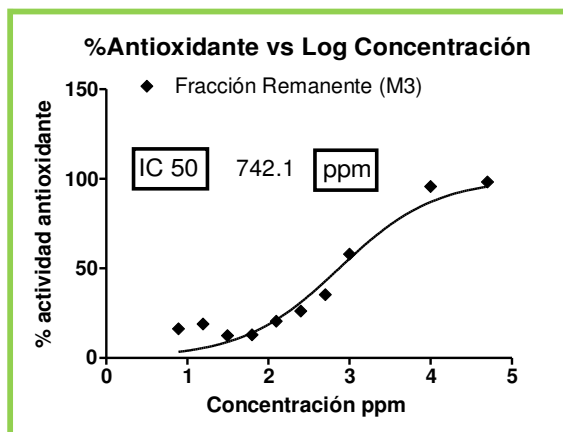
La curva tiene un  $R^2$  de 0.970 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 686.6 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{-(\log IC_{50} - x) * b})$   
 donde:  $b = 0.8772$   
 $\log IC_{50} = 2.837$

**Figura 55.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Buddleja*



La curva tiene un  $R^2$  de 0.975 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 283.6 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{-(\log IC_{50} - x) * b})$   
 donde:  $b = 1.723$   
 $\log IC_{50} = 2.453$

**Figura 56.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Buddleja*



**Figura 57.** Gráfica de regresión de la fracción remanente de *Buddleja*

La curva tiene un  $R^2$  de 0.9442 con  $\alpha = 0.05$

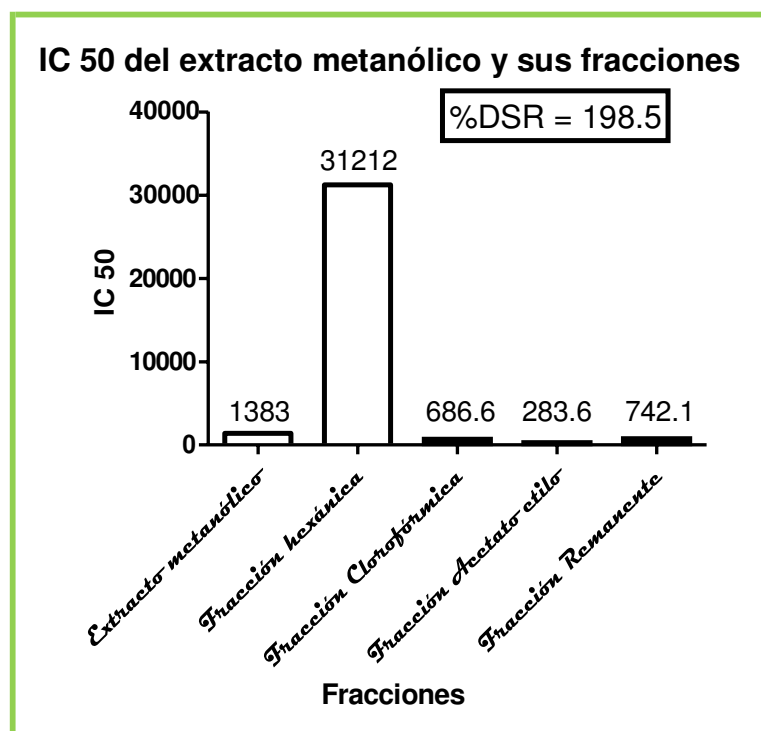
El  $IC_{50}$  es 742.1 ppm con 30 puntos analizados

La ecuación de la curva es:

$$y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$$

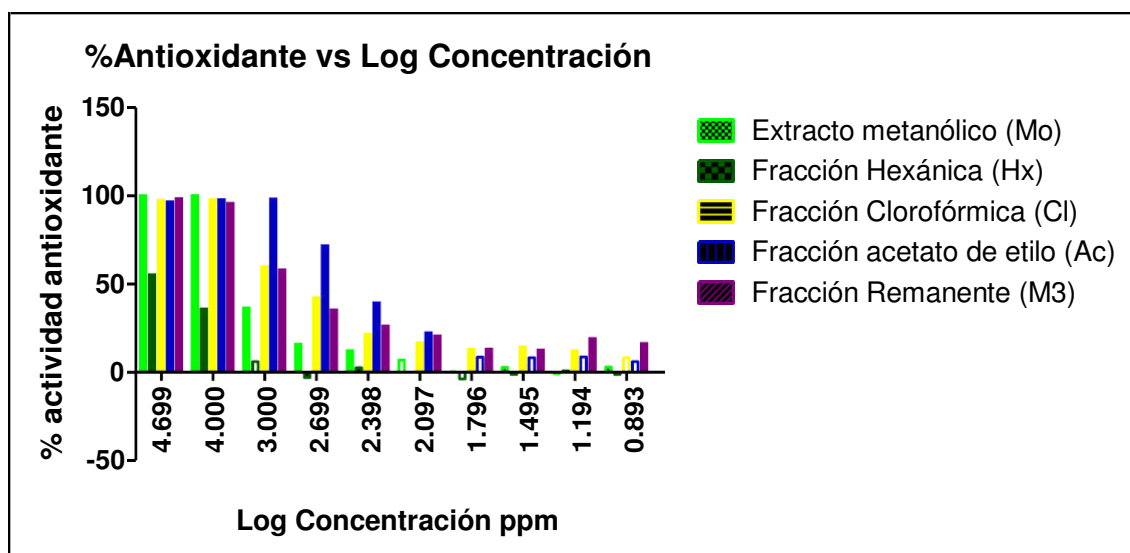
donde:  $b = 0.7326$

$\log IC_{50} = 2.87$



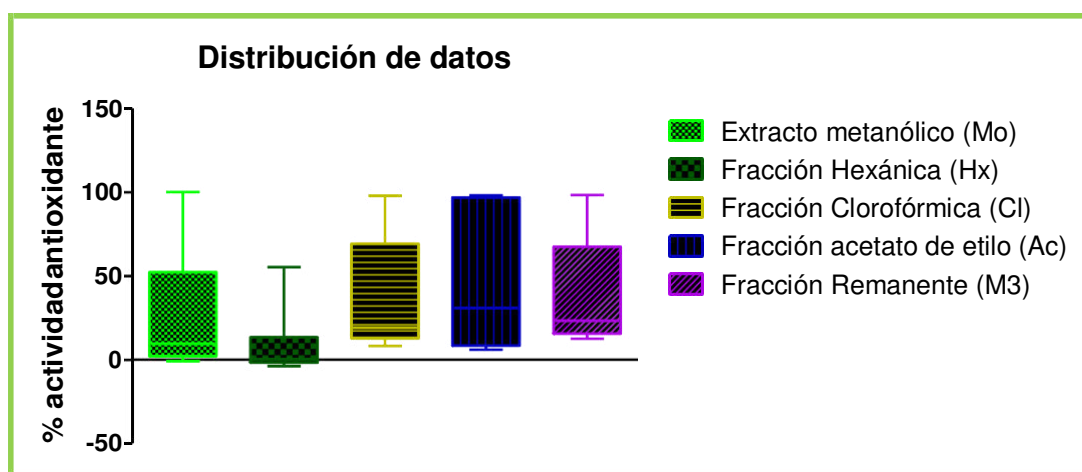
**Figura 58.** Comparación del  $IC_{50}$  del extracto metanólico Bi con sus fracciones

En esta gráfica se comparan los  $IC_{50}$  del extracto metanólico y sus fracciones, y se evidencia que la fracción hexánica es la más pobre en cuanto a actividad antioxidante, también se aprecia que ninguna actividad está cerca de los controles positivos.



**Figura 59.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Bi a diferentes concentraciones.

Esta gráfica muestra que los valores de actividad antioxidante tanto del extracto metanólico como de sus fracciones se mantienen altos hasta una concentración de 1000 ppm, luego disminuyen considerablemente por debajo de una efectividad de 50% con la disminución de las concentraciones.

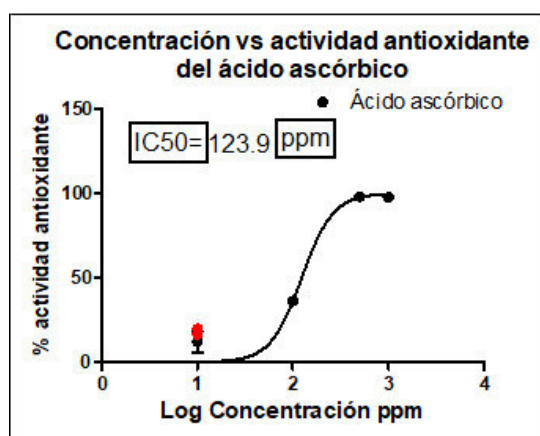


**Figura 60.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para la *Buddleja incana*

En este gráfico se puede observar la distribución de los datos de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones, separados en cuartiles, donde la fracción de Acetato de etilo tiene aproximadamente la mitad de sus datos con una actividad mayor a 50%, mientras que en la fracción hexánica todos sus datos están por debajo de 50% de actividad; también se puede

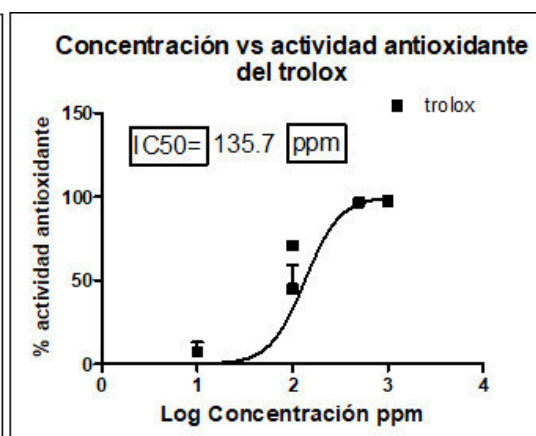
apreciar que el resto de fracciones tienen aproximadamente el 75% de sus datos con actividades menores de 50%, lo que denota una muy baja capacidad antioxidante del corno de *Dracontium spruceanum*

Por otro lado, el análisis se realizó en comparación con controles positivos analizados bajo las mismas condiciones que las muestras, se utilizó dos controles de referencia, el ácido ascórbico y el trolox a concentraciones de 1000, 500, 100 y 10 ppm, calculando el IC<sub>50</sub> con el mismo reproceso que las muestras.



La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.996 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 123.9 ppm con 10 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 2.656$   
 $\log IC_{50} = 2.093$

**Figura 61.** IC<sub>50</sub> del ácido ascórbico con ABTS·.



La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.972 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 135.7 ppm con 11 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 2.37$   
 $\log IC_{50} = 2.133$

**Figura 62.** IC<sub>50</sub> del trolox con ABTS·.

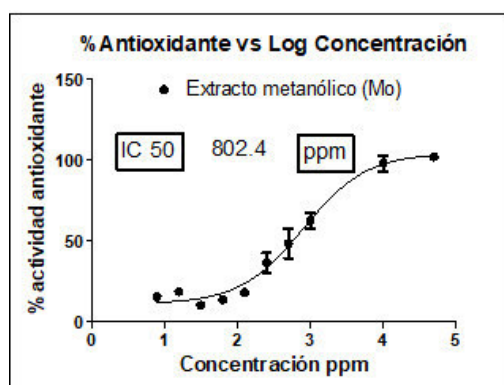
Aquí se muestra los IC<sub>50</sub> de los controles calculados con el mismo método de regresión no lineal y determinados por el método ABTS·, se puede observar que los valores obtenidos para el ácido ascórbico y trolox son 123.9 y 135.7 ppm respectivamente, estos valores en comparación con los obtenidos por el método DPPH· (47.8 y 38.53 ppm para el ácido ascórbico y trolox respectivamente) son más altos, tratándose de la misma sustancia, esto puede ser debido a que se trata de métodos distintos.

***Piper aduncum* (*Piper aduncum*: Pa)**

**Tabla 23.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Piper aduncum* y sus fracciones

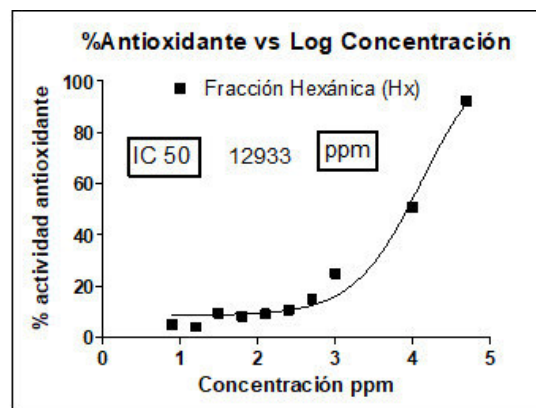
Muestra	repetición	Concentración en ppm									
		50000	10000	1000	500	250	125	62,5	31,25	15,625	7,8125
Mo	1	105,446	105,198	53,465	31,436	24,752	16,337	12,129	12,376	18,812	16,584
	2	98,020	88,861	69,307	62,624	45,050	18,069	14,604	11,386	18,564	14,851
	3	102,970	100,743	64,851	51,733	39,851	20,297	14,356	7,178	18,812	15,594
Hx	1	94,042	52,065	24,983	12,525	11,713	10,088	9,817	10,900	6,297	7,109
	2	91,334	49,898	24,712	15,775	10,088	8,192	6,026	9,276	3,859	5,213
	3	91,605	50,169	25,525	17,129	10,630	9,276	9,005	8,192	2,234	2,776
Cl	1	100,000	100,271	64,794	37,712	22,004	17,400	6,838	8,192	3,318	4,672
	2	97,563	100,000	66,960	37,982	24,171	18,754	10,088	8,734	4,401	4,672
	3	98,646	100,000	56,127	38,795	21,192	19,838	10,359	9,817	0,609	1,422
Ac	1	99,753	98,023	79,246	47,375	28,351	20,198	13,280	10,068	5,621	3,644
	2	99,506	100,000	81,223	52,069	33,292	23,657	12,786	9,821	8,833	7,350
	3	99,259	100,494	86,164	53,305	33,045	23,410	15,998	11,303	8,833	8,091
M3	1	99,753	78,505	24,151	15,998	14,268	11,797	7,844	2,656	6,115	6,115
	2	99,506	82,211	26,127	19,209	13,033	11,303	11,303	7,844	9,080	6,609
	3	100,000	80,976	23,657	14,515	10,809	9,574	9,821	5,621	6,362	5,374

Se muestran los valores procesados de la actividad antioxidante, por triplicado, los cuales serán procesados para obtener el valor del IC<sub>50</sub> de cada una de las fracciones:



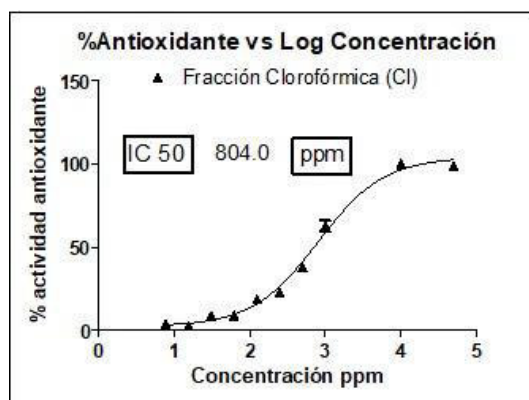
La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.957 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 802.4 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(X - \text{LogIC}_{50})})$   
 donde: Bottom = 104.5  
 LogIC<sub>50</sub> = 2.904      Top = 11.11

**Figura 63.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Piper aduncum*



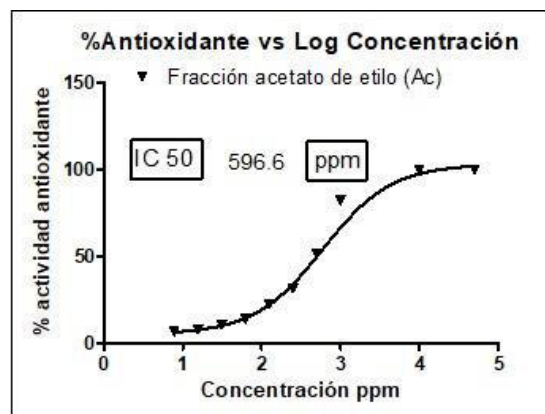
La curva tiene un R<sup>2</sup> de 0.978 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 12933 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(X - \text{LogIC}_{50})})$   
 donde: Bottom = 112.8  
 LogIC<sub>50</sub> = 4.112      Top = 8.678

**Figura 64.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Piper aduncum*



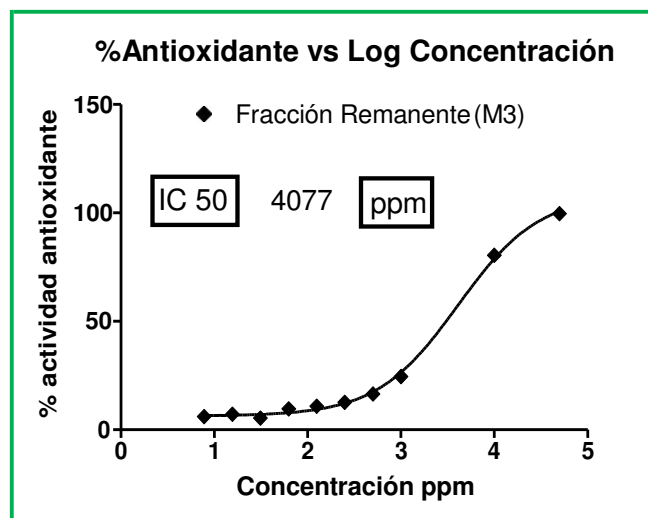
La curva tiene un  $R^2$  de 0.991 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 804 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(X - \text{LogIC}_{50})})$   
 donde: Bottom = 104.1  
 LogIC<sub>50</sub> = 2.905      Top = 2.359

**Figura 65.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Piper aduncum*



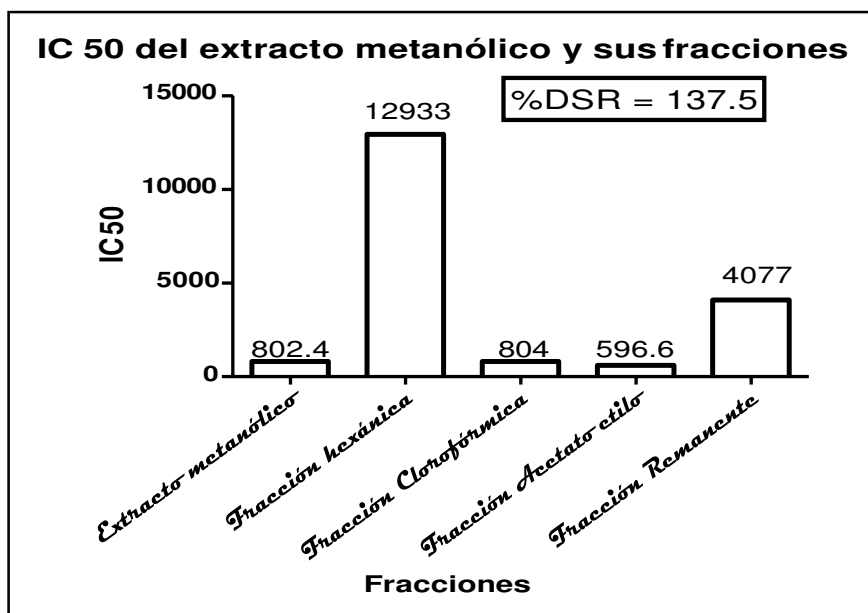
La curva tiene un  $R^2$  de 0.996 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 596.6 ppm con 27 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(X - \text{LogIC}_{50})})$   
 donde: Bottom = 102.8  
 LogIC<sub>50</sub> = 2.776      Top = 5.046

**Figura 66.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Piper aduncum*



**Figura 67.** Gráfica de regresión de la fracción remanente de *Piper aduncum*

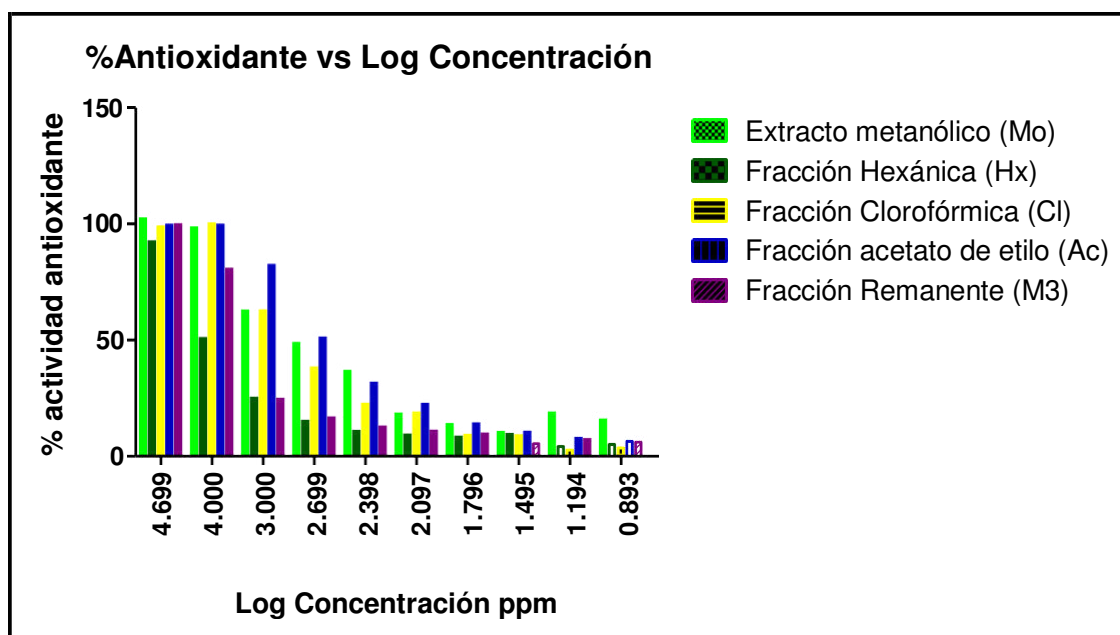
La curva tiene un  $R^2$  de 0.997 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 4077 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(X - \text{LogIC}_{50})})$   
 donde: Bottom = 108.4  
 LogIC<sub>50</sub> = 3.61      Top = 6.349



**Figura 68.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Pa con sus fracciones

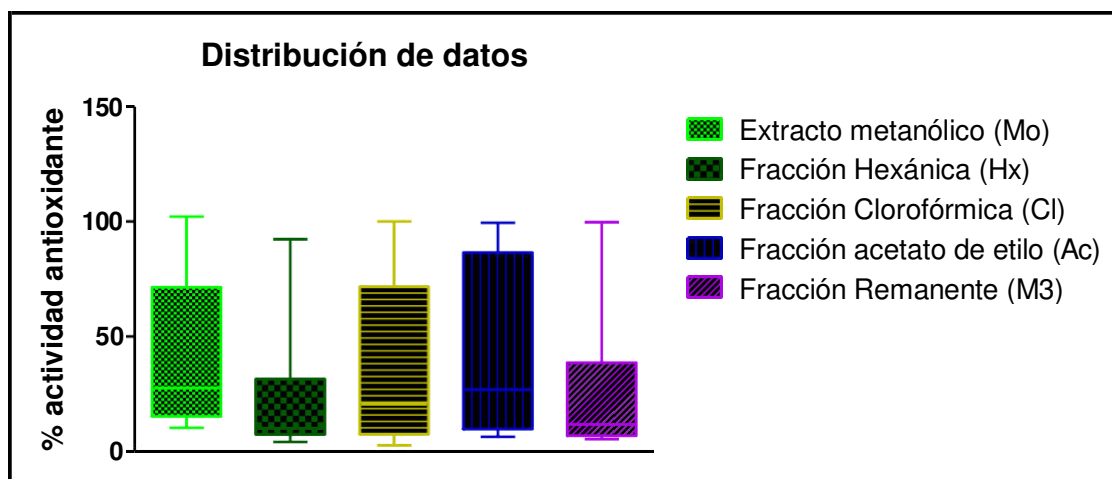
En esta gráfica se aprecia que la fracción hexánica es la de menor actividad, seguida por el remanente; entre las fracciones que presentan un IC<sub>50</sub> menor a 1000 ppm, se muestra a la fracción clorofórmica como la de menor eficacia, esto puede decir que los compuestos lipídicos que contiene el *Piper aduncum* no poseen una actividad antioxidante, a pesar que la fracción apolar de esta planta fue la que obtuvo mayores rendimientos y en la cromatografía de capa fina se evidenció un gran número de compuestos.





**Figura 69.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Pa a diferentes concentraciones.

Esta gráfica de comparación, permite observar que por debajo de 1000 ppm tanto el extracto metanólico como sus fracciones pierden actividad considerablemente mostrando valores por debajo de 50% de actividad.



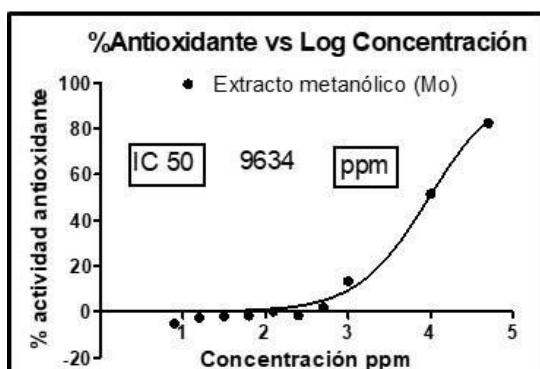
**Figura 70.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del Extracto metanólico y sus fracciones para el *Piper aduncum*

En el gráfico de cajas se evidencia como solo aproximadamente el 25% de los datos tienen actividades por encima de 50%.

### *Dracontium spruceanum* (Jergón sachá – hojas Dh)

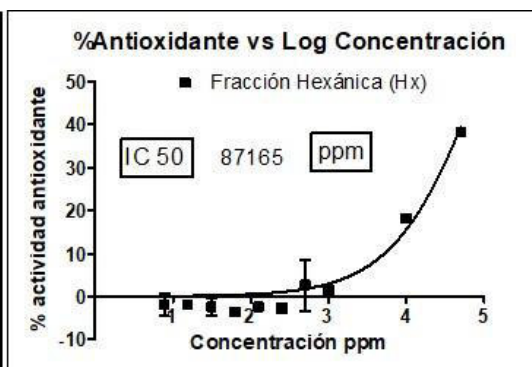
**Tabla 24.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* y sus fracciones

		Concentración en ppm									
Muestra	repetición	50000	10000	1000	500	250	125	62,5	31,25	15,625	7,8125
Mo	1	81,848	49,175	14,191	2,640	-4,620	0,330	-0,660	-1,650	-0,660	-7,591
	2	83,168	51,815	10,891	2,640	-1,320	0,000	-1,980	-2,310	-5,281	-5,281
	3	82,508	53,465	14,851	0,330	1,320	0,000	-2,310	-1,980	-1,980	-2,640
Hx	1	38,284	17,822	1,650	-3,300	-4,950	-3,300	-3,960	1,320	-2,640	-4,290
	2	37,624	18,812	0,990	-3,300	-2,310	-2,310	-3,630	-5,611	-3,300	-4,950
	3	38,944	17,822	1,980	14,521	-0,990	-1,650	-3,300	-2,970	0,000	3,300
CI	1	99,107	85,417	6,548	13,393	8,631	5,952	10,119	2,083	6,250	0,595
	2	99,702	94,345	9,226	12,500	6,845	6,845	5,952	4,167	3,274	2,381
	3	104,464	92,857	14,881	10,119	10,119	6,548	7,440	5,655	4,167	4,762
Ac	1	98,512	92,262	26,190	23,810	17,560	10,714	9,226	7,738	6,250	6,548
	2	98,512	94,048	29,762	23,810	15,179	12,202	10,119	7,440	7,143	5,655
	3	97,619	93,155	33,929	25,298	19,643	11,905	10,417	7,738	6,548	4,464
M3	1	91,130	50,215	17,310	-5,579	-2,432	-5,579	-9,871	-	-	-
	2	92,847	61,660	15,594	7,868	2,146	-3,577	-9,013	11,016	15,021	13,019
	3	92,561	63,376	17,310	9,585	-0,715	-1,860	-4,435	-2,718	-3,863	-7,868



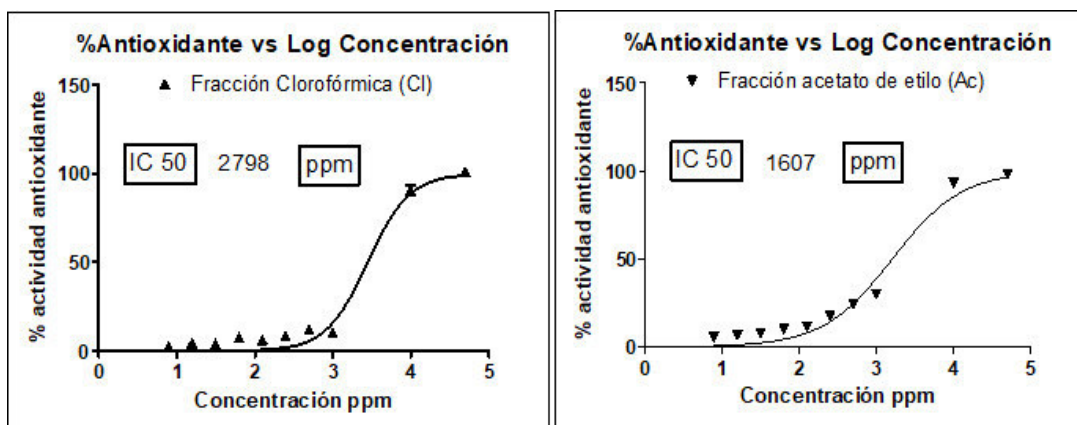
La curva tiene un  $R^2$  de 0.986 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 9634 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC50 - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.9989$   
 $\log IC50 = 3.984$

**Figura 71.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Dracontium* hojas



La curva tiene un  $R^2$  de 0.906 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 87165 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC50 - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.7824$   
 $\log IC50 = 4.94$

**Figura 72.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Dracontium* hojas

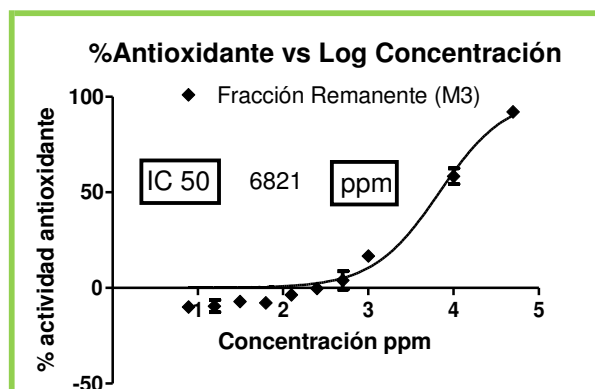


La curva tiene un  $R^2$  de 0.976 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 2798 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.626$   
 $\log IC_{50} = 3.447$

**Figura 73.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Dracontium hojass*

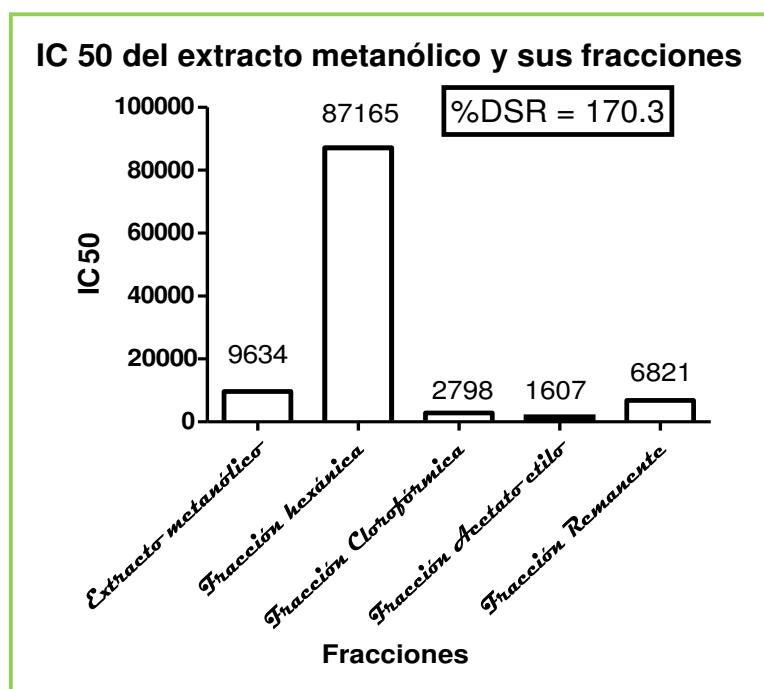
La curva tiene un  $R^2$  de 0.973 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 1607 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.9612$   
 $\log IC_{50} = 3.206$

**Figura 74.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Dracontium hojass*



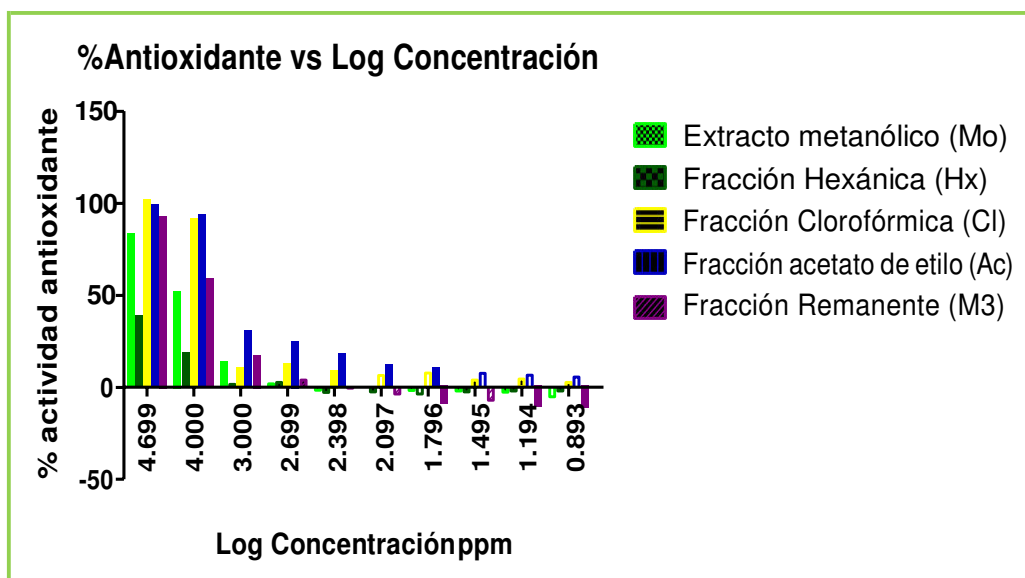
**Figura 75.** Gráfica de regresión de la fracción remanente de *Dracontium spruceanum hojass*

La curva tiene un  $R^2$  de 0.9518 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC<sub>50</sub> es 6821 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.117$   
 $\log IC_{50} = 3.834$



**Figura 76.** Comparación del IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Dh con sus fracciones

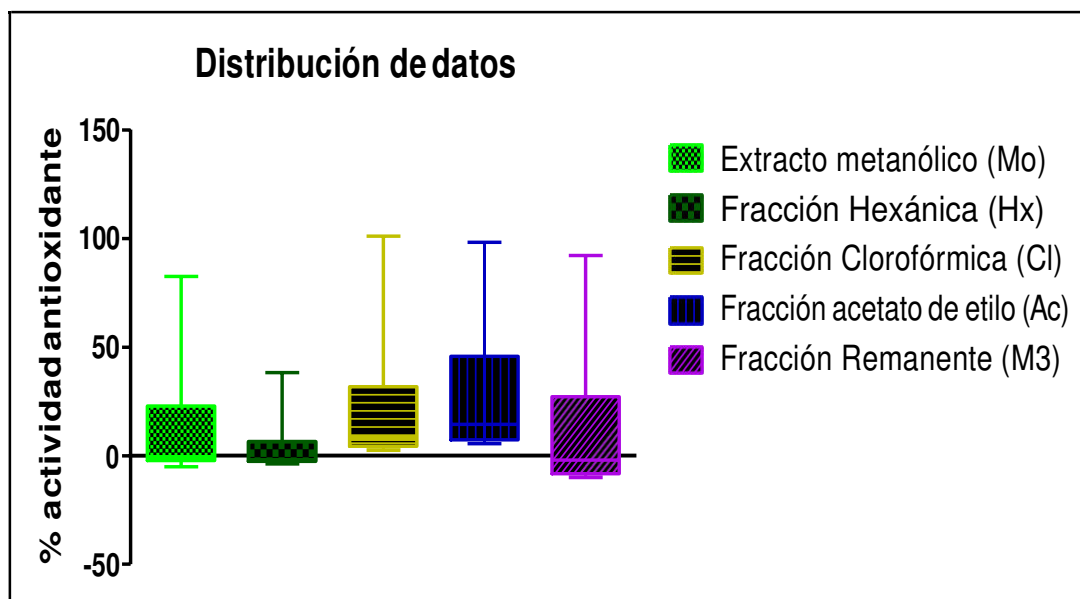
En esta gráfica se comparan los IC<sub>50</sub> del extracto metanólico Y sus fracciones, donde se puede notar que todos los valores están por encima de 1000 ppm, lo que evidencia una actividad antioxidante muy pobre para el *Piper aduncum*.



**Figura 77.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Dh a diferentes concentraciones.

En esta gráfica se observa que solo a partir de 10 000 ppm (10 mg/mL) para arriba se hace notable la actividad antioxidante, y entre las fracciones que mantienen mejor actividad está la fracción clorofórmica y la d Acetato d etilo, es importante notar aquí que ambas fracciones tienen un diferencial d

potencial que puede mencionarse que en el *Piper aduncum* hay moléculas tanto polares como polares con actividad antioxidante.



**Figura 78.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones para *Dracontium spruceanum* hojas

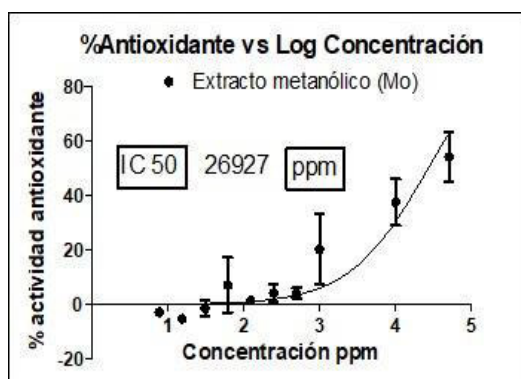
En este gráfico se puede observar la distribución de los datos de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones, separados en cuartiles, se aprecia que

Por otro lado, el análisis se realizó en comparación con controles positivos analizados bajo las mismas condiciones que las muestras, se utilizó dos controles de referencia, el ácido ascórbico y el trolox a concentraciones de 1000, 500, 250 y 100 ppm, calculando el  $IC_{50}$  con el mismo reproceso que las muestras. aproximadamente el 75% de los datos expresan valores de actividad antioxidante por debajo de 40%.

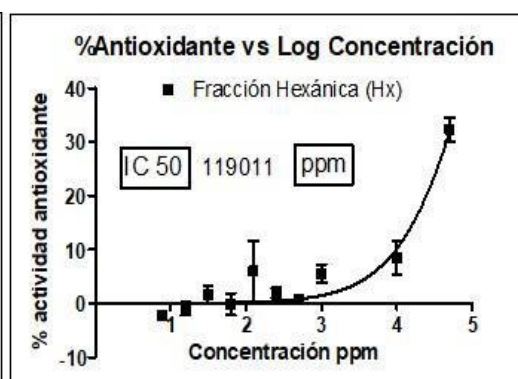
***Dracontium spruceanum* (Jergón Sacha corno: Dc)****Tabla 25.** Porcentaje de actividad antioxidante del extracto metanólico de *Dracontium spruceanum* y sus fracciones

Muestras	repetición	Concentración en ppm									
		50000	10000	1000	500	2 <sub>50</sub>	125	62,5	31,25	15,625	7,8125
<b>Mo</b>	1	35,908	26,466	7,296	0,715	0,143	1,001	-1,860	-3,863	-6,152	-1,574
	2	60,515	31,903	7,296	7,296	1,860	0,715	-4,149	-4,149	-3,863	-5,007
	3	65,951	54,220	46,209	4,435	10,730	2,718	27,325	4,149	-5,866	-1,860
<b>Hx</b>	1	35,826	13,528	3,739	1,835	3,739	17,335	3,467	4,827	0,204	-1,428
	2	32,563	9,177	4,011	0,748	1,564	-0,340	-3,331	-0,612	-3,331	-2,515
	3	28,484	2,651	8,906	-0,612	0,476	1,020	-0,612	0,476	0,204	-2,787
<b>Cl</b>	1	100,544	85,860	26,852	10,809	6,730	2,379	0,748	-0,340	0,476	-0,068
	2	96,465	90,211	27,124	14,616	8,362	2,651	0,748	1,835	1,835	-1,428
	3	100,272	98,912	42,352	14,616	61,931	8,090	11,625	2,107	2,651	-3,059
<b>Ac</b>	1	86,872	55,866	22,905	17,877	16,480	15,363	12,011	12,011	12,011	11,453
	2	83,240	51,676	24,581	16,760	15,363	12,291	9,218	9,218	8,939	8,101
	3	79,888	54,469	20,670	14,804	12,849	10,894	8,380	7,821	6,983	4,749
<b>M3</b>	1	31,564	18,994	9,497	6,983	10,056	4,469	4,190	5,028	3,352	2,793
	2	31,844	21,788	10,335	5,028	9,218	4,469	2,514	3,911	0,000	3,631
	3	38,268	21,788	26,257	22,905	9,497	6,704	4,190	2,793	0,838	1,397

En este cuadro se puede notar que los valores de actividad antioxidante decrecen notablemente en comparación con las hojas y además en relación a las otras plantas estudiadas, prácticamente el corno de Jergón Sacha no presenta actividad antioxidante, a excepción de la fracción clorofórmica, esta muestra elevados valores de actividad, aunque a concentraciones mayores a 1000 ppm.

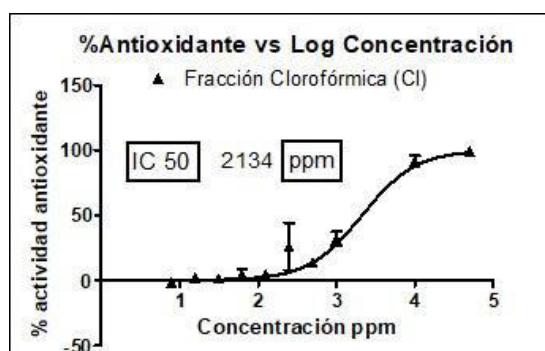


La curva tiene un  $R^2$  de 0.960 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 26927 ppm con 26 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.834$   
 $\log IC_{50} = 4.43$

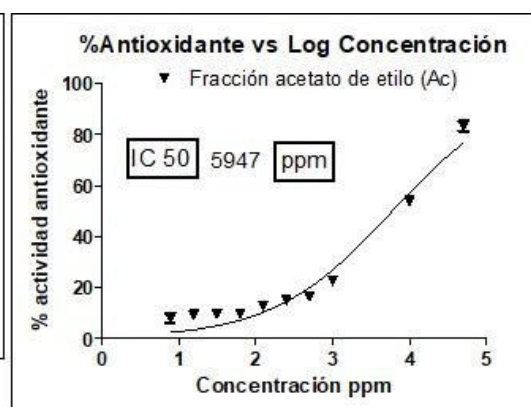


La curva tiene un  $R^2$  de 0.914 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 119011 ppm con 29 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.8775$   
 $\log IC_{50} = 5.076$

**Figura 79.** Gráfica de regresión del Extracto Metanólico de *Dracontium* cormo. **Figura 80.** Gráfica de regresión de la Fracción Hexánica de *Dracontium* cormo.

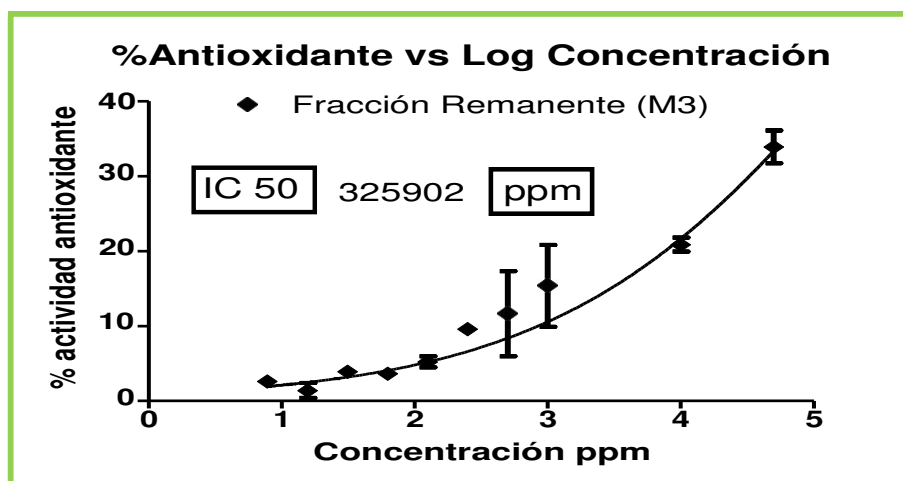


La curva tiene un  $R^2$  de 0.997 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 2134 ppm con 26 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 1.265$   
 $\log IC_{50} = 3.329$



La curva tiene un  $R^2$  de 0.960 con  $\alpha = 0.05$   
 El IC50 es 5947 ppm con 30 puntos analizados  
 La ecuación de la curva es:  
 $y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$   
 donde:  $b = 0.5586$   
 $\log IC_{50} = 3.774$

**Figura 81.** Gráfica de regresión de la Fracción Clorofórmica de *Dracontium* cormo. **Figura 82.** Gráfica de regresión de la Fracción Acetato de etilo de *Dracontium* cormo.



**Figura 83.** Gráfica de regresión de La fracción remanente de *Dracontium spruceanum* cormo

La curva tiene un  $R^2$  de 0.9643 con  $\alpha = 0.05$

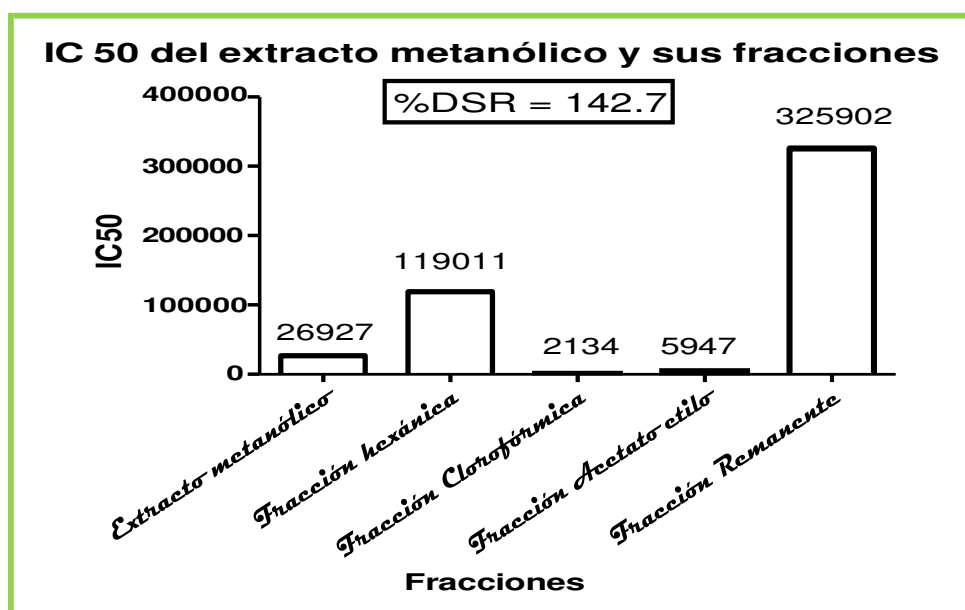
El  $IC_{50}$  es 325902 ppm con 28 puntos analizados

La ecuación de la curva es:

$$y = 100 / (1 + 10^{((\log IC_{50} - x) * b)})$$

donde:  $b = 0.3692$

$$\log IC_{50} = 5.513$$

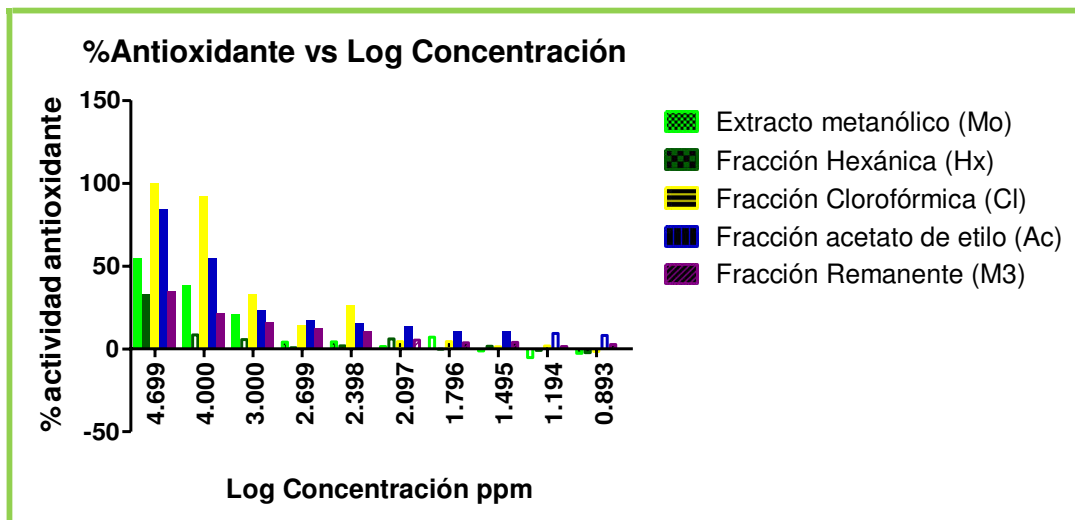


**Figura 84.** Comparación del  $IC_{50}$  del extracto metanólico Dc con sus fracciones

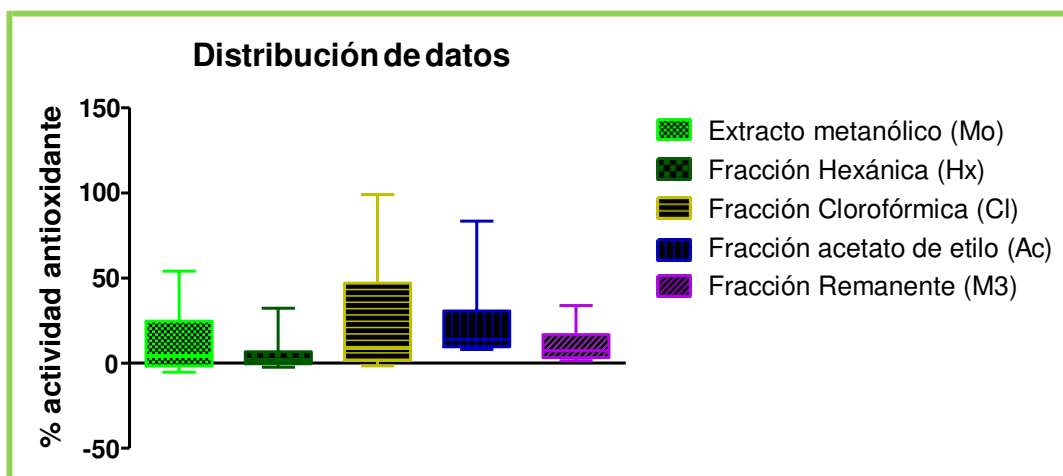
En esta gráfica se comparan los  $IC_{50}$  del extracto metanólico Y sus fracciones, donde se evidencia que todos superan los 1000 ppm, por lo que su actividad antioxidante puede considerarse pobre, el menor valor corresponde a la



fracción clorofórmica por lo que podría pensarse contiene algún compuesto lipófilo pero en trazas.



**Figura 85.** Porcentaje antioxidante de cada Fracción de Dc a diferentes concentraciones. En esta gráfica se observa la poca actividad antioxidante de todas las muestras, por debajo de 50% de actividad, y la que resalta entre ellas es la fracción clorofórmica, pero a partir de la concentración de 10 000 ppm.



**Figura 86.** Diagrama de cajas de los valores de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones para el *Dracontium spruceanum* cormo

En este gráfico se puede observar la distribución de los datos de actividad antioxidante del extracto metanólico y sus fracciones, separados en cuartiles, donde se observa que casi todas las muestras están comprimidas en un 100% de sus valores en la escala de 0 a 50% de actividad. ABTS<sup>++</sup>

#### 4.1.3.3 Comparación de resultados obtenidos por DPPH· y ABTS·.

**Tabla 26.** Capacidad Antioxidante Relativa al ácido ascórbico

	Mo		Hx		Cl		Ac		M3	
	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·
<b>Bi</b>	0,834	0,090	0,038	0,004	0,616	0,180	4,668	0,437	0,903	0,167
<b>Pa</b>	0,710	0,154	0,070	0,010	0,713	0,154	1,978	0,208	0,164	0,030
<b>Dh</b>	0,045	0,013	0,001	0,001	0,066	0,044	0,123	0,077	0,076	0,018
<b>Dc</b>	0,122	0,005	0,001	0,001	1,261	0,058	0,113	0,021	0,021	0,000

Este cuadro muestra los valores de capacidad antioxidante relativa ( $Ca_r$ ) al ácido ascórbico, este valor, como se mencionó en la metodología, se calculó dividiendo el  $IC_{50}$  del control positivo entre el  $IC_{50}$  de la muestra, valores mayores a la unidad denotan un poder antioxidante mayor al control, para este caso se está determinando la capacidad antioxidante en relación al ácido ascórbico como control positivo; se determina la  $Ca_r$  de cada extracto metanólico y sus fracciones hallado con el método DPPH· y ABTS·, para compararlos, se esperaría que los valores de capacidad antioxidante sean similares en ambos métodos, pues determina la proporción en actividad antioxidante de una muestra con relación a un patrón, para comparar mejor las  $Ca_r$  entre ambos métodos se divide a ambos entre sí, en este cociente resultante se espera ver la similitud con valores cercanos a la unidad y valores lejanos a la unidad denotan una diferencia significativa.

**Tabla 27.** Capacidad Antioxidante relativa al trolox

	Mo		Hx		Cl		Ac		M3	
	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·	DPPH·	ABTS·
<b>Bi</b>	0,672	0,098	0,031	0,004	0,496	0,198	3,763	0,478	0,728	0,183
<b>Pa</b>	0,573	0,169	0,057	0,010	0,574	0,169	1,594	0,227	0,132	0,033
<b>Dh</b>	0,036	0,014	0,001	0,002	0,053	0,048	0,099	0,084	0,061	0,020
<b>Dc</b>	0,098	0,005	0,000	0,001	1,016	0,064	0,091	0,023	0,017	0,000

En este cuadro se muestra las capacidades antioxidantes relativas de las muestras en función al trolox.

**Tabla 28.** Relación de  $Ca_r$  de las muestras halladas por DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot$ .

Relación entre $Ca_r$ ABTS $\cdot$ ./DPPH $\cdot$ para el ácido ascórbico						Relación entre $Ca_r$ ABTS $\cdot$ ./DPPH $\cdot$ para el trolox					
	Mo	Hx	Cl	Ac	M3		Mo	Hx	Cl	Ac	M3
<b>Bi</b>	0,107	0,104	0,293	0,094	0,185	<b>Bi</b>	0,146	0,141	0,398	0,127	0,251
<b>Pa</b>	0,217	0,136	0,216	0,105	0,186	<b>Pa</b>	0,295	0,185	0,294	0,143	0,252
<b>Dh</b>	0,288	1,333	0,67	0,625	0,24	<b>Dh</b>	0,391	1,811	0,91	0,849	0,326
<b>Dc</b>	0,038	1,692	0,046	0,185	0,018	<b>Dc</b>	0,051	2,299	0,063	0,251	0,025

Se divide la capacidad antioxidante del ABTS $\cdot$  entre la  $Ca_r$  del DPPH $\cdot$  para un obtener un cociente que muestre la proporción de la capacidad antioxidante relativa hallado con el método ABTS $\cdot$  frente al hallado con el método DPPH $\cdot$ .

Si los valores de  $Ca_r$  hallados por ambos métodos fueran similares, que es lo que se esperaría, el cociente entre ellos debería ser cercano a la unidad, sin importar el tipo de control positivo que se use, sea ácido ascórbico o trolox, sin embargo se puede observar que la mayoría de los datos muestran cocientes bajos, solo un 10% de todos los datos obtenidos muestran valores cercanos a 0.9, los cuales corresponden a la fracción clorofórmica y de acetato de etilo del *Dracontium sprucanum* hojas.

**Tabla 29.** IC<sub>50</sub> ordenadas de menor a mayor según el método usado

Bi	DPPH $\cdot$		ABTS $\cdot$		coincidencias
	Ac	10,24	Ac	283,6	
	M3	52,96	Cl	686,6	2 de 5 40% de similitud
	Mo	57,31	M3	742,1	
	Cl	77,66	Mo	1383	
	Hx	1247	Hx	31212	
<b>Pa</b>	Ac	24,17	Ac	596,6	3 de 5 60% de similitud
	Cl	67,07	Mo	802,4	
	Mo	67,3	Cl	804	
	M3	292,1	M3	4077	
	Hx	678,5	Hx	12933	
<b>Dh</b>	Ac	387,5	Ac	1607	3 de 5 60% de similitud
	M3	631,5	Cl	2798	
	Cl	722,7	M3	6821	
	Mo	1069	Mo	9634	
	Hx	44826	Hx	87165	
<b>Dc</b>	Cl	37,92	Cl	2134	1 de 5 20% de similitud
	Mo	391,7	Ac	5947	
	Ac	424	Mo	26927	
	M3	2316	Hx	119011	

Hx	77689	M3	325902
----	-------	----	--------

En este cuadro se han ordenado los valores de los diferentes  $IC_{50}$  de todas las muestras analizadas en este estudio, de menor a mayor valor, para determinar si los métodos DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot+$  coinciden en predecir el posicionamiento ordinal del extracto y sus fracciones en referencia a su actividad antioxidante. Se puede apreciar que máximo se alcanza un 60% de coincidencias entre DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot+$  y mínimo un 20% de coincidencias, pero ambos métodos coinciden en establecer cuál es la muestra con mayor y menor actividad antioxidante.

Los métodos de determinación de la actividad antioxidante DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot+$  usados para analizar las plantas en estudio, no resultan equivalentes en cuanto a la proporcionalidad de la actividad de una muestra frente a un control (Ca $_r$ ) y tampoco muy equivalentes (hasta 60% de similitud) en cuanto al posicionamiento ordinal de las muestras analizadas, por tanto para escoger el método, el cual será comparado con las otras pruebas, se tomará en cuenta el que muestre  $IC_{50}$  de un extracto más alejado del  $IC_{50}$  de un control o estándar puro, en este caso el DPPH $\cdot$  muestra valores de  $IC_{50}$  de extractos muy cercanos al de una sustancia antioxidante potente y pura (trólox, ácido ascórbico), por lo que se escogerá el método ABTS $\cdot-$ , el cual arroja valores más alejados de los controles y por ende probablemente más confiables.

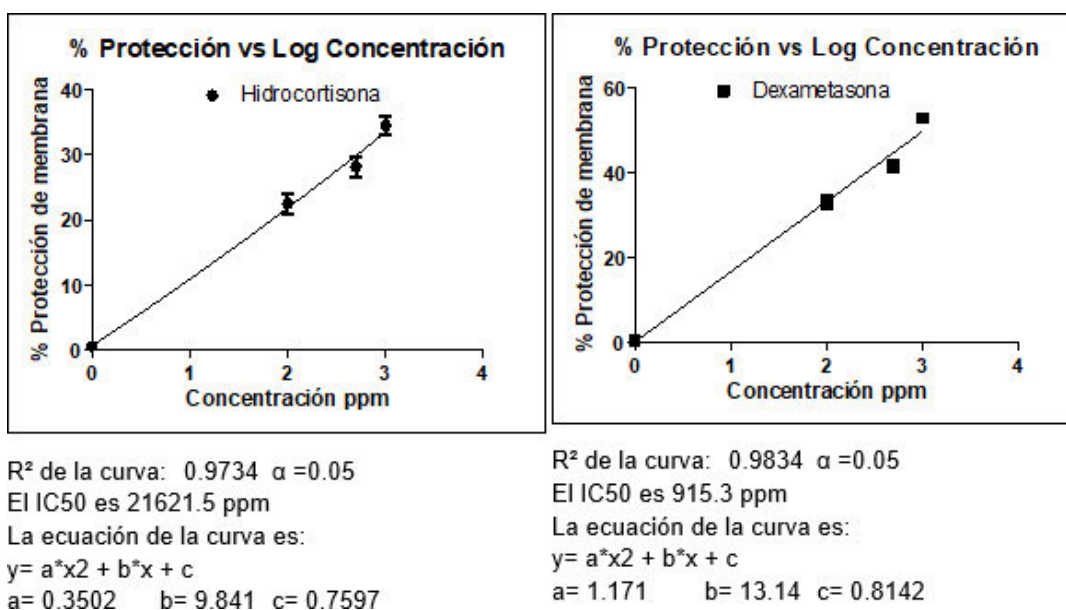
#### **4.1.4 Análisis y discusión de resultados de la prueba antiinflamatoria**

La determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro* por estabilización de la membrana de eritrocitos se hizo con tres concentraciones 1000, 500 y 250 ppm y usando como controles positivos dos corticoides, la hidrocortisona y la dexametasona, la potencia de estos dos puede ser ordenada como el menos potente la hidrocortisona y también catalogada como la unidad en lo que respecta a potencia antiinflamatoria, el resto de fármacos se catalogarán con unidades referentes al poder de la hidrocortisona, es así por ejemplo que a la dexametasona se le asigna 25, siendo mucho más potente que la hidrocortisona (Benedí & Romero, 2006), el objetivo principal de los controles usados en esta prueba será el de verificar si con el procedimiento empleado se logra reproducir el posicionamiento ordinal de los fármacos de referencia,

es decir sin con el método empleado se obtiene como resultados el orden de menor a mayor eficacia antiinflamatoria con la hidrocortisona y dexametasona respectivamente, por tanto el posicionamiento ordinal que se obtenga de las muestras analizadas resultará más confiable.

**Tabla 30.** Porcentaje de actividad antiinflamatoria de los controles

concentración (ppm)	Hidrocortisona			Dexametasona		
1000	32,578	37,096	33,847	51,427	54,682	52,341
500	26,054	31,009	27,445	39,828	43,860	40,960
100	20,254	25,598	21,754	31,128	35,743	32,424



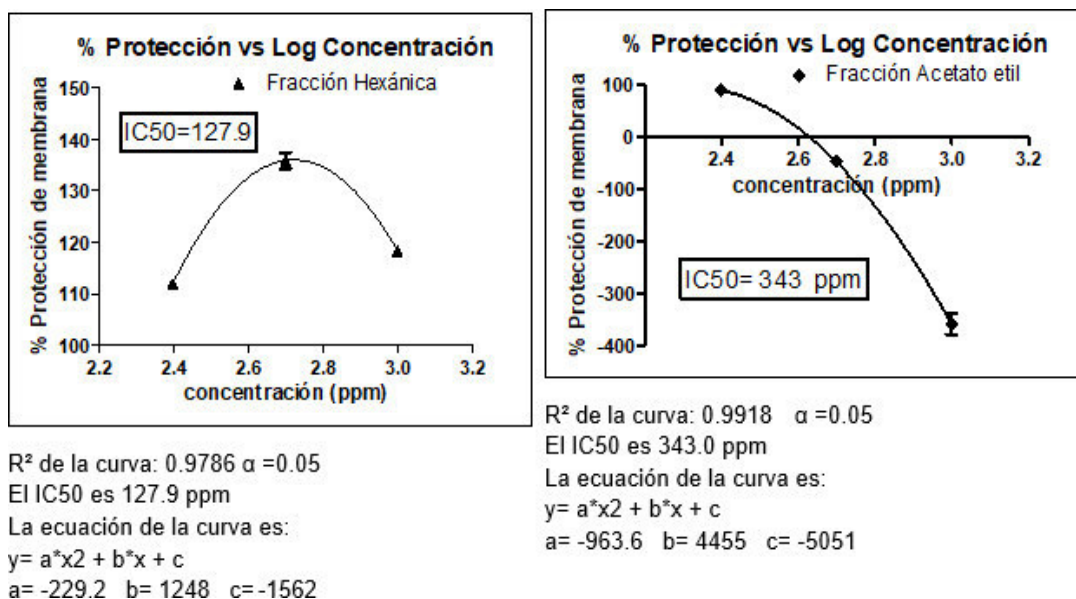
**Figura 87.** Curva de regresión de los controles positivos en la prueba antiinflamatoria

Se observa que la dexametasona tiene valores más altos de actividad antiinflamatoria que la hidrocortisona a las diferentes concentraciones probadas, con el valor del  $IC_{50}$  también se puede verificar que la dexametasona ( $IC_{50} = 915.3$  ppm) tiene mayor efecto antiinflamatorio que la hidrocortisona ( $IC_{50} = 21621.5$  ppm), probados con este método, por lo que se utilizará con las muestras.

***Buddleja incana*****Tabla 31.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Buddleja incana* y sus fracciones

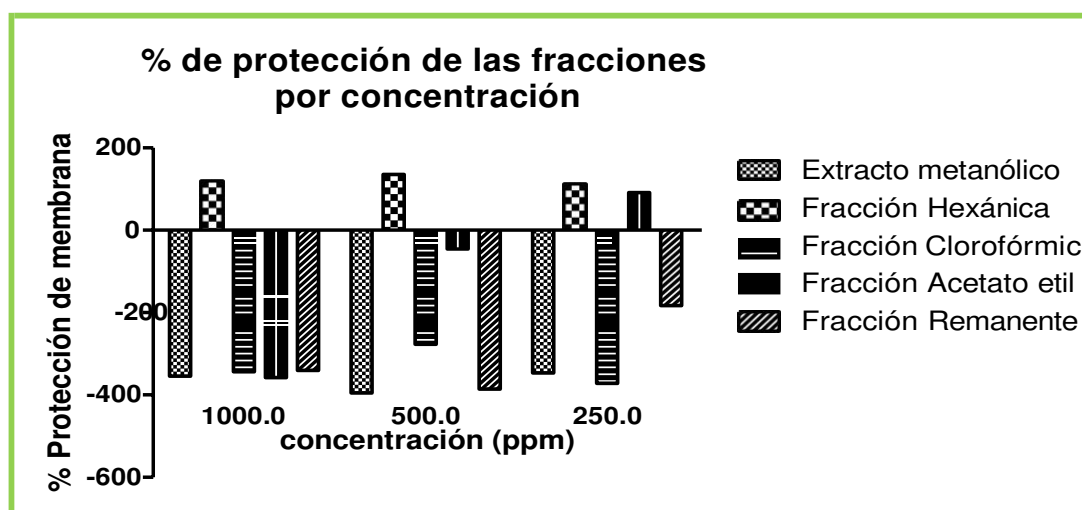
Concentración ppm		1000	500	250
Mo	rep 1	-350	-390	-315
	rep 2	-391	-360	-382
	rep 3	-322	-435	-342
Hx	rep 1	118	136	111
	rep 2	120	133	113
	rep 3	117	139	112
Cl	rep 1	-339	-273	-339
	rep 2	-379	-250	-410
	rep 3	-313	-307	-367
Ac	rep 1	-353	-44	92
	rep 2	-394	-36	91
	rep 3	-326	-57	92
M3	rep 1	-336	-381	-163
	rep 2	-375	-352	-206
	rep 3	-309	-425	-180

No todas las muestras evidenciaron tener actividad antiinflamatoria, los valores negativos se consideran nulos en actividad y más bien demuestran tener actividad hemolítica, pues al lisar la membrana de los eritrocitos, estos liberan mayor cantidad de hemoglobina que la ocasionada por la solución hipotónica empleada y general que el valor de la muestra sea mayor que la del patrón, por otro lado no podría pensarse que pigmentos rojos de la planta generen este exceso en el color que supera al patrón, pues a la absorbancia de las muestras se le resta el valor del blanco muestra, lo más probable es que los extractos contengan compuestos hemolíticos, como es el caso de las saponinas, el cual en cantidad de trazas puede generar hemólisis (Bissinger et al., 2014), por ello en algunas muestras se observa que al aumentar la concentración el efecto de protección aumenta sin embargo llega un punto en el que al aumentar la concentración este empieza a disminuir y puede deberse a aumento en concentración de saponinas el cual desde una concentración de 15 ppm genera hemólisis de manera significativa. Por ende, solo se mostrarán las gráficas de las muestras que dieron resultados positivos.



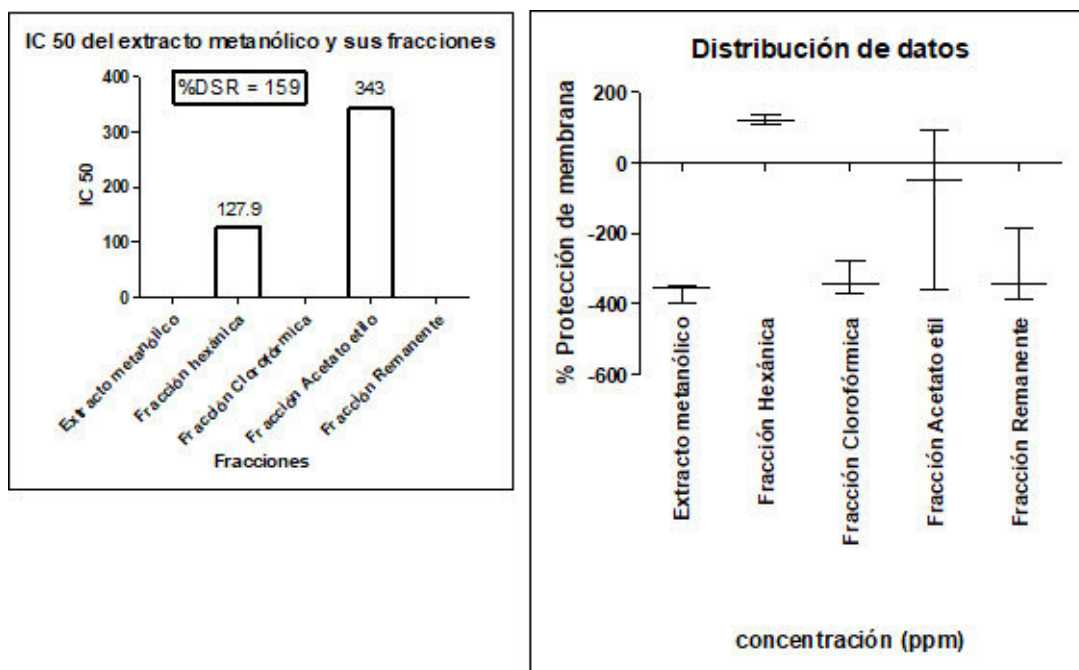
**Figura 88.** IC<sub>50</sub> de la Fracción Acetato hexánica de *Buddleja incana*

**Figura 89.** IC<sub>50</sub> de la Fracción De etilo de *Buddleja incana*



**Figura 90.** Porcentaje de protección de membrana de las fracciones de Bi

En este gráfico se hace notorio que solo la fracción hexánica presenta actividad y también la de acetato de etilo, pero a la concentración de 250 ppm, lo que podría indicar que esta fracción podría contener saponinas, las cuales serían responsables que al incrementar la concentración se generen resultados negativos.



**Figura 91 y 92.** comparaciones de las fracciones de Bi en la protección de membrana

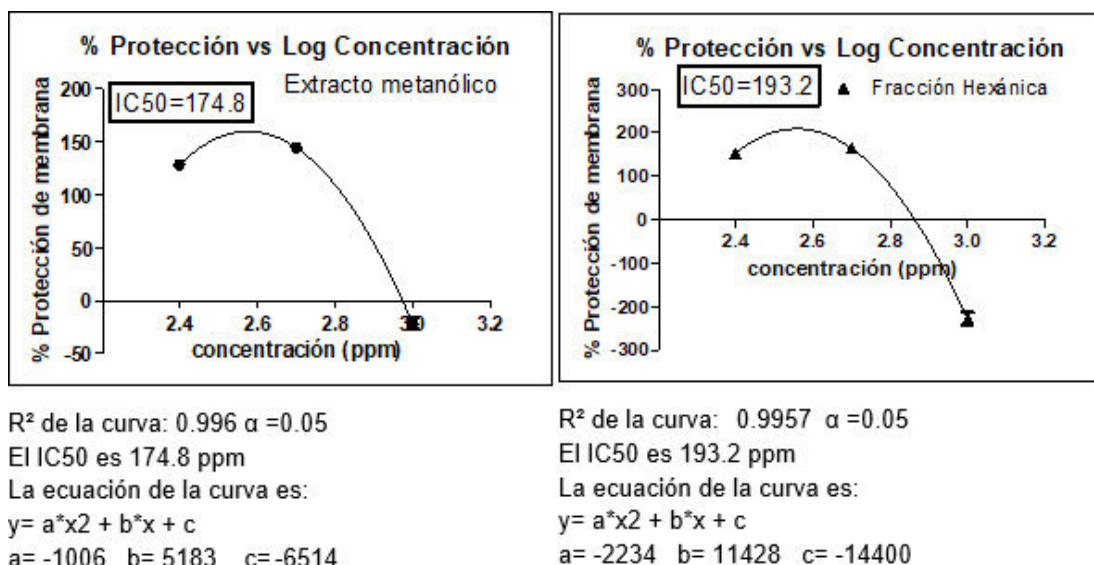
Nótese en la figura de la derecha que el IC<sub>50</sub> de la fracción hexánica es menor, por ende, posee mejor actividad que la fracción de acetato de etilo, además sus datos oscilan en un rango alrededor al 100% de actividad a cualquiera de las concentraciones probadas.

### *Piper aduncum*

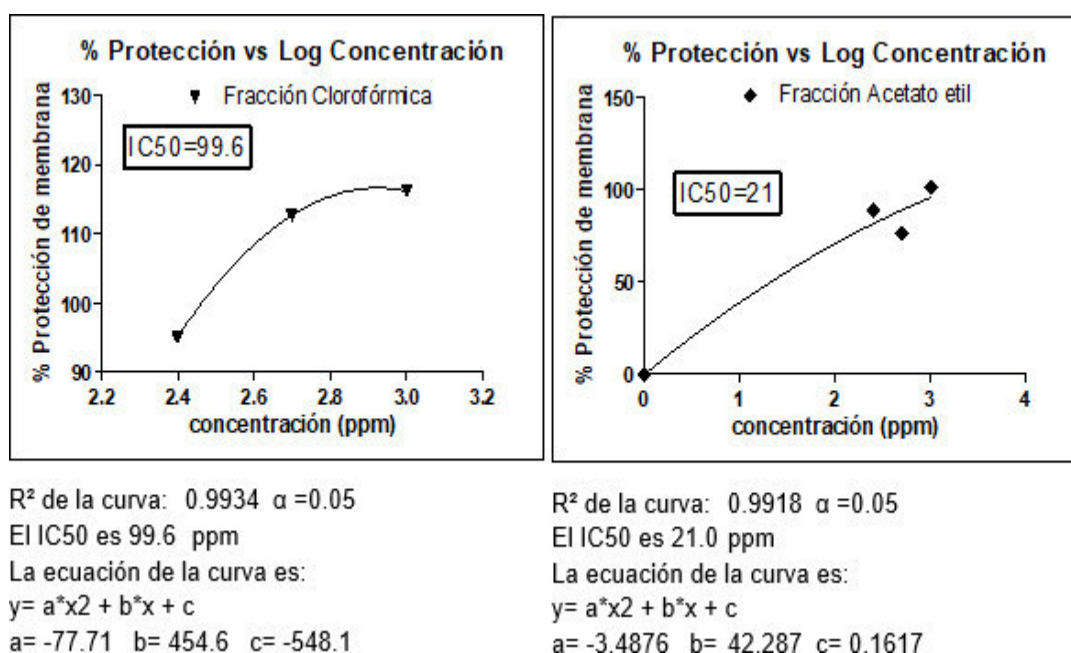
**Tabla 32.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Piper aduncum* y sus fracciones

Concentración ppm		1000	500	250
Mo	rep 1	-31,577	141,261	130,423
	rep 2	-13,303	143,923	127,887
	rep 3	-20,613	147,915	126,197
Hx	rep 1	-254,423	160,254	157,042
	rep 2	-205,197	164,141	152,289
	rep 3	-224,887	169,972	149,120
Cl	rep 1	117,493	111,789	94,676
	rep 2	115,063	112,549	95,120
	rep 3	116,035	113,690	95,415
Ac	rep 1	101,521	77,732	87,831
	rep 2	101,310	76,296	88,845
	rep 3	101,394	74,141	89,521
M3	rep 1	100,761	94,761	88,592
	rep 2	100,655	94,423	89,542
	rep 3	100,697	93,915	90,176

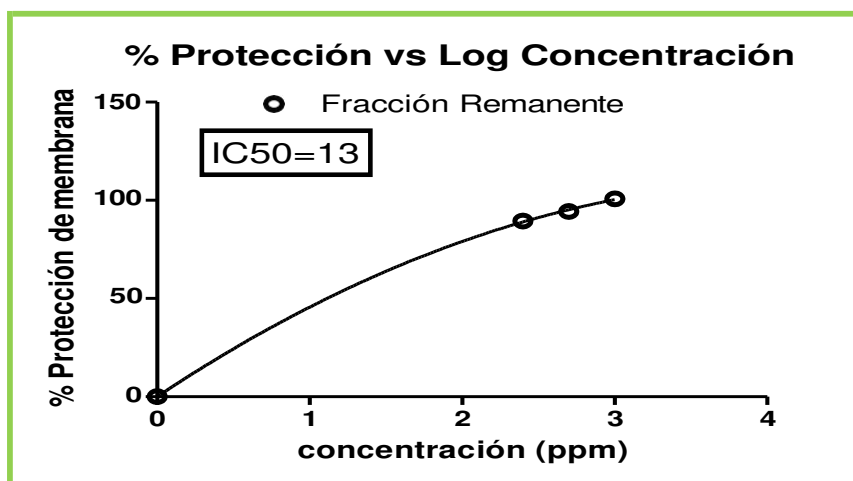




**Figura 93 y 94.** IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de Pa y fracción hexánica en la protección de membrana



**Figura 95 y 96.** IC<sub>50</sub> de la fracción clorofórmica y de acetato de etilo de Pa en la protección de membrana



**Figura 99.** IC<sub>50</sub> de la fracción remanente de Pa en la protección de membrana

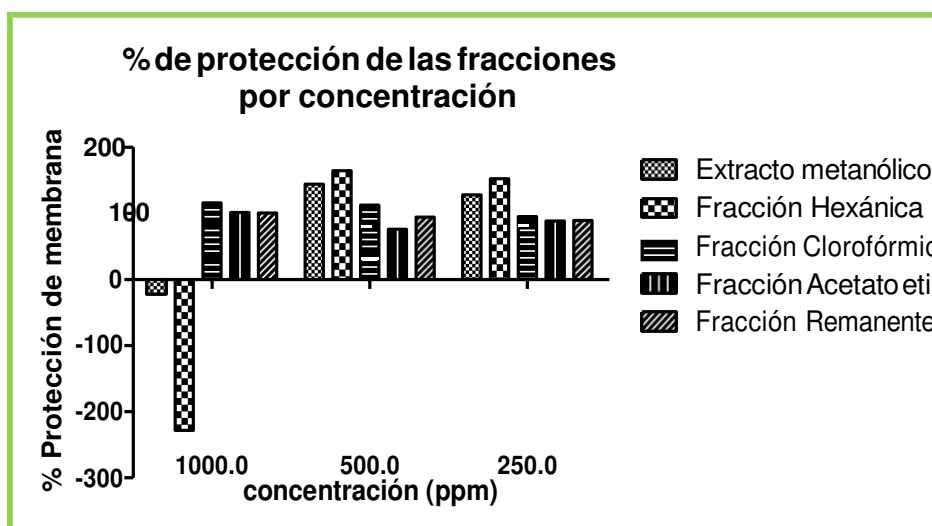
R<sup>2</sup> de la curva: 0.9998  $\alpha$  =0.05

El IC<sub>50</sub> es 13.0 ppm

La ecuación de la curva es:

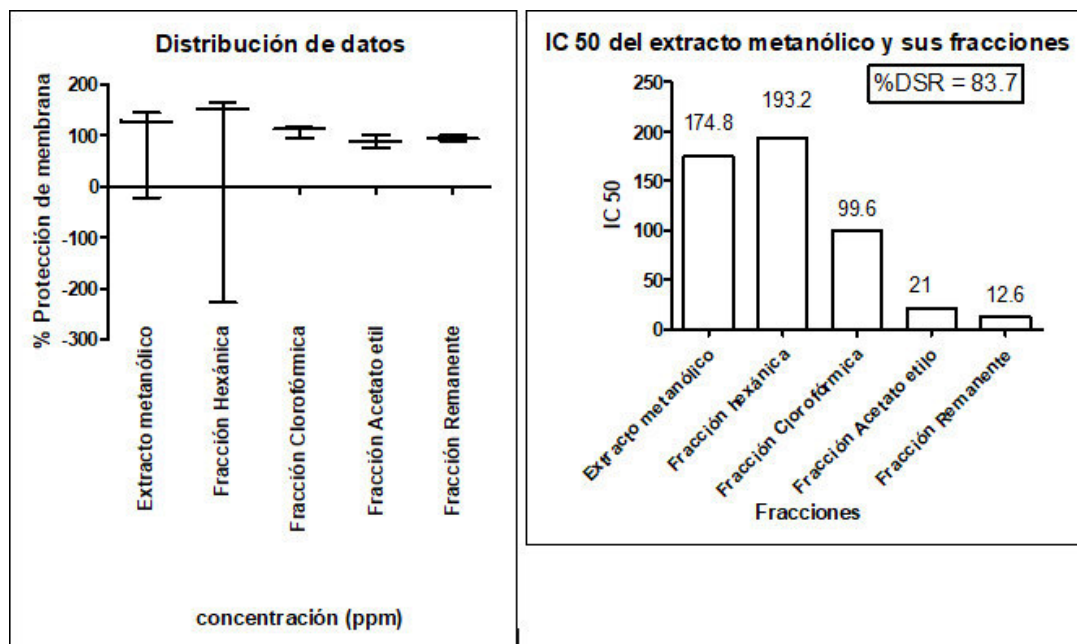
$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

a= -6.075 b= 51.67 c= 0.01049



**Figura 100.** Comparación de las fracciones de *Piper aduncum*

En este caso todas las muestras tienen efecto cercano al 100%, excepto el extracto metanólico y la fracción hexánica los cuales en 1000 ppm pierden su actividad de protección.



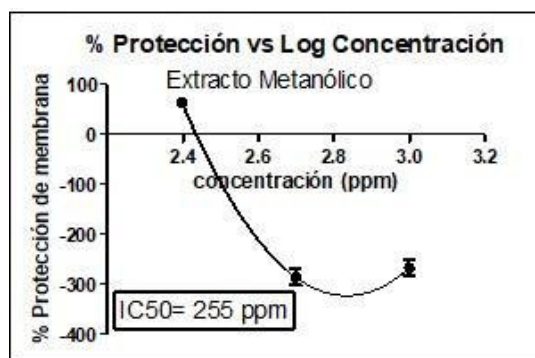
**Figura 101 y 102.** IC<sub>50</sub> y distribución de datos de las muestras de *Piper aduncum*

Estas dos gráficas muestran los valores más bajos de IC<sub>50</sub> corresponden a las fracciones de acetato de etilo y remanente, sin embargo la fracción clorofórmica también se le suma en efectividad al mostrar que todos sus datos se mantienen en un rango de actividad de entre 50 y 100%.

### ***Dracontium spruceanum* hojas**

**Tabla 33.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Dracontium spruceanum* hojas y sus fracciones

Concentración ppm		1000	500	250
Mo	rep 1	-263,232	-281,359	61,972
	rep 2	-296,254	-316,028	65,141
	rep 3	-241,218	-258,246	67,254
Hx	rep 1	-233,951	-288,331	-301,577
	rep 2	-264,310	-323,634	-268,113
	rep 3	-213,711	-264,796	-245,803
Cl	rep 1	89,542	127,190	120,535
	rep 2	88,592	129,662	118,824
	rep 3	90,176	125,542	117,683
Ac	rep 1	90,239	97,908	89,352
	rep 2	89,352	97,718	90,239
	rep 3	90,831	98,035	90,831
M3	rep 1	111,155	100,697	101,521
	rep 2	112,169	100,761	101,394
	rep 3	110,479	100,655	101,310



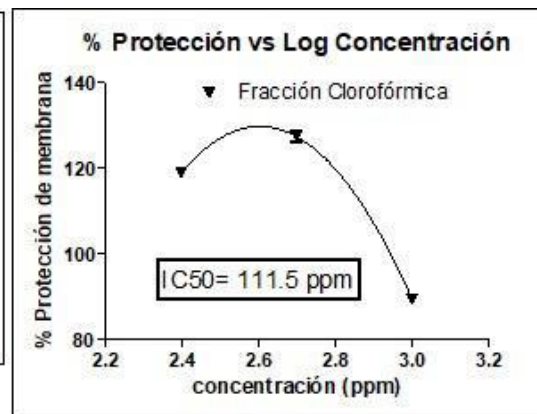
$R^2$  de la curva: 0.9863  $\alpha = 0.05$

El IC<sub>50</sub> es 255.0 ppm

La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

$$a = 2032 \quad b = -11520 \quad c = 16005$$



$R^2$  de la curva: 0.9942  $\alpha = 0.05$

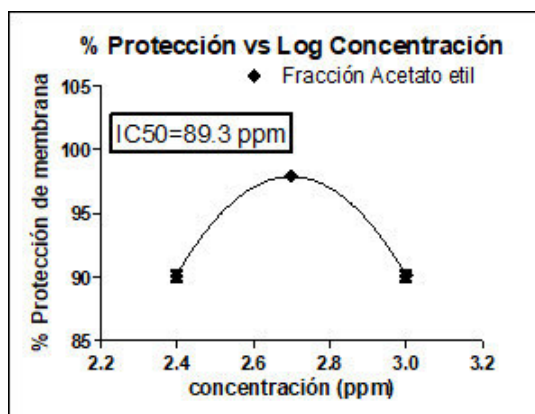
El IC<sub>50</sub> es 111.5 ppm

La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

$$a = -256.5 \quad b = 1335 \quad c = -1608$$

**Figura 103 y 104.** IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de Dh y fracción clorofórmica



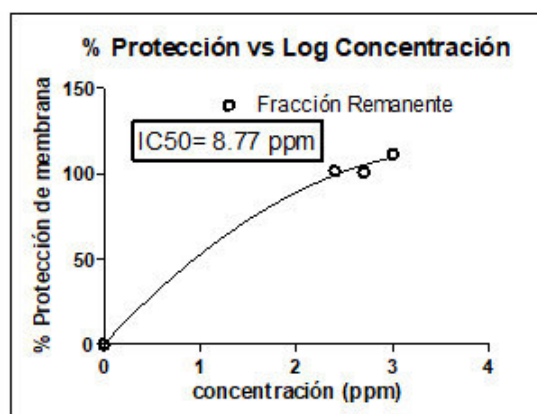
$R^2$  de la curva: 0.9815  $\alpha = 0.05$

El IC<sub>50</sub> es 89.3 ppm

La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

$$a = -85.48 \quad b = 461.4 \quad c = -524.8$$



$R^2$  de la curva: 0.993  $\alpha = 0.05$

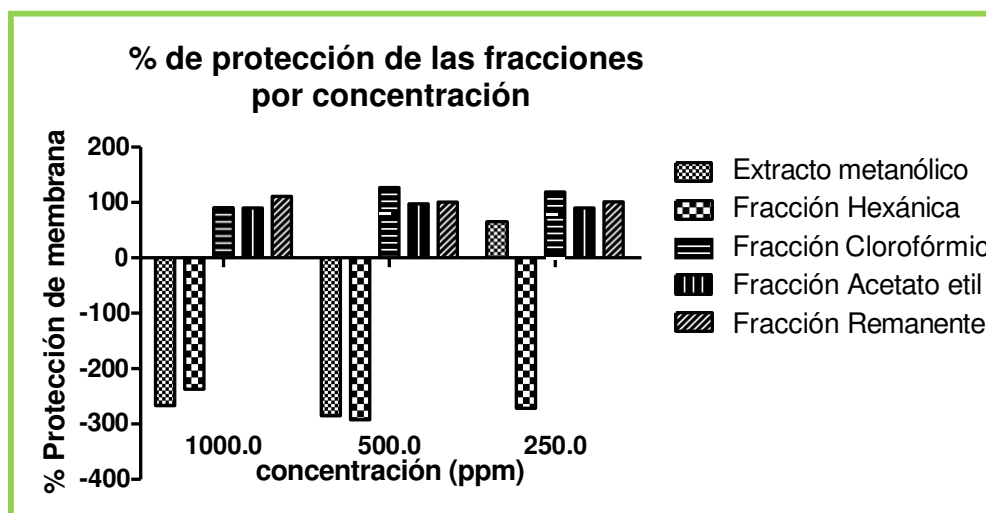
El IC<sub>50</sub> es 8.8 ppm

La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

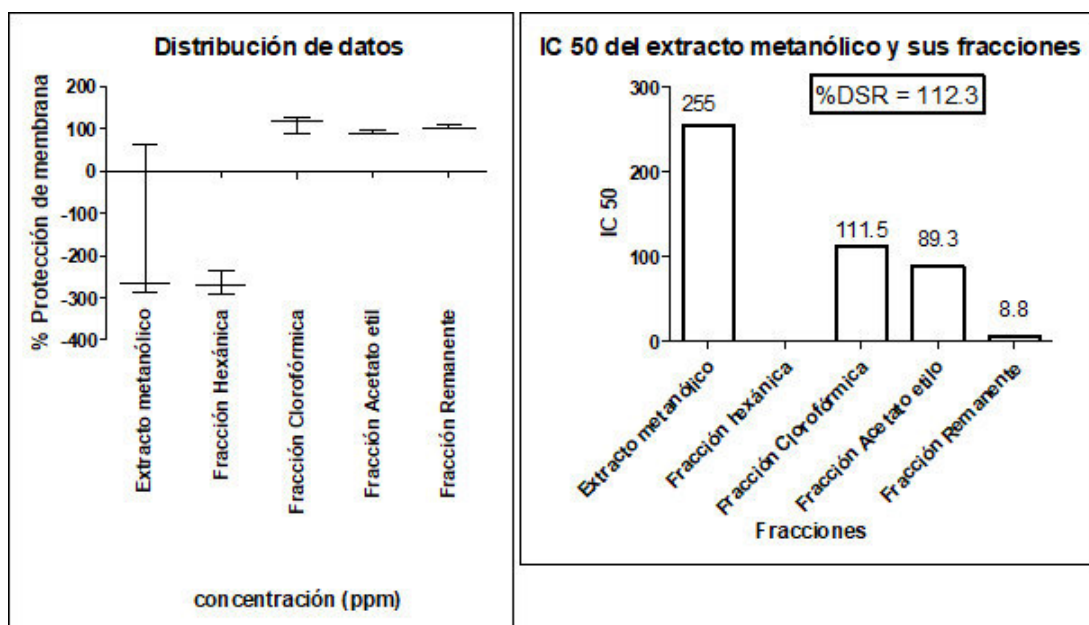
$$a = -8.036 \quad b = 60.55 \quad c = 0.0532$$

**Figura 105 y 106.** IC<sub>50</sub> de la fracción acetato etilo y remanente de Dh



**Figura 107.** Comparación de las fracciones de *Dracontium spruceanum* hojas

Se observa que la fracción hexánica no posee actividad a ninguna concentración, al igual que el extracto metanólico excepto en la concentración de 250 ppm, una dosis mayor genera la hemólisis

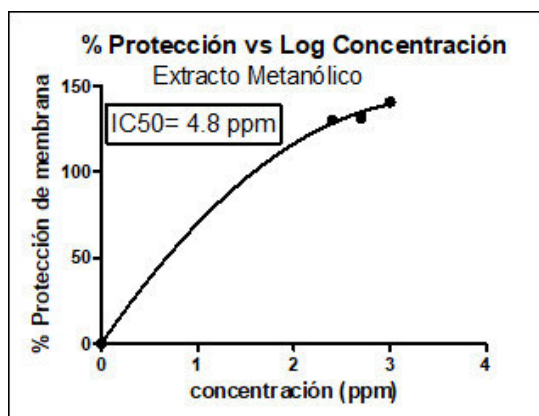


**Figura 108 y 109.** IC<sub>50</sub> y distribución de datos de las muestras de *Dracontium spruceanum* hojas

Se puede observar que la fracción clorofórmica, acetato de etilo y remanente poseen sus datos comprimidos en un rango entre 50 y 100% de actividad, sin embargo, al comparar los IC<sub>50</sub> de cada uno el de la fracción remanente posee el valor más bajo de 8.8 ppm, indicando una potente actividad de protección de membrana.

***Dracontium spruceanum* cormo****Tabla 34.** Porcentajes de actividad antiinflamatoria del extracto de *Dracontium spruceanum* cormo y sus fracciones

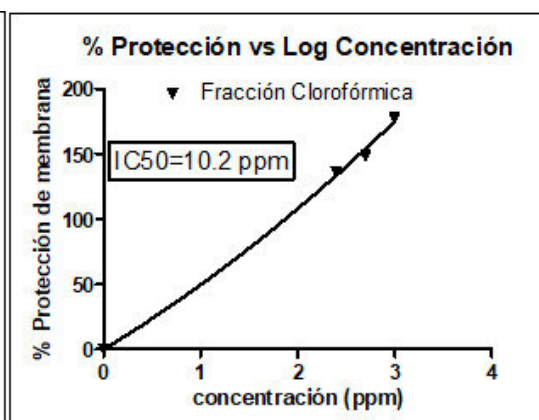
Concentración ppm		1000	500	250
Mo	rep 1	140,437	132,324	128,162
	rep 2	144,113	133,275	131,796
	rep 3	137,986	129,472	130,887
Hx	rep 1	-288,331	-257,000	-180,965
	rep 2	-323,634	-267,500	-217,218
	rep 3	-264,796	-225,500	-208,155
Cl	rep 1	176,690	149,563	134,056
	rep 2	183,662	151,021	138,451
	rep 3	172,042	145,190	137,352
Ac	rep 1	90,937	89,944	97,380
	rep 2	90,113	89,648	97,042
	rep 3	91,486	90,831	97,127
M3	rep 1	83,268	87,789	88,866
	rep 2	81,746	87,430	87,430
	rep 3	84,282	88,866	87,789

R<sup>2</sup> de la curva: 0.998    α = 0.05El IC<sub>50</sub> es 4.7 ppm

La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

$$a = -11.79 \quad b = 81.82 \quad c = 0.04133$$

R<sup>2</sup> de la curva: 0.996    α = 0.05El IC<sub>50</sub> es 10.2 ppm

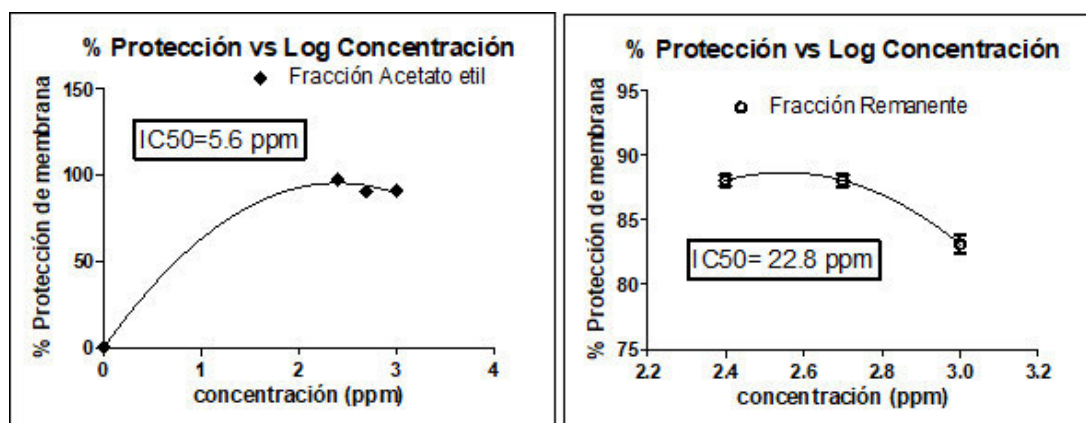
La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

$$a = 4.385 \quad b = 45.18 \quad c = 0.06735$$

**Figura 110 y 111.** IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de Dc y fracción clorofórmica





R<sup>2</sup> de la curva: 0.9969  $\alpha = 0.05$

El IC<sub>50</sub> es 5.6 ppm

La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

$$a = -16.51 \quad b = 79.26 \quad c = 0.0449$$

R<sup>2</sup> de la curva: 0.8985  $\alpha = 0.05$

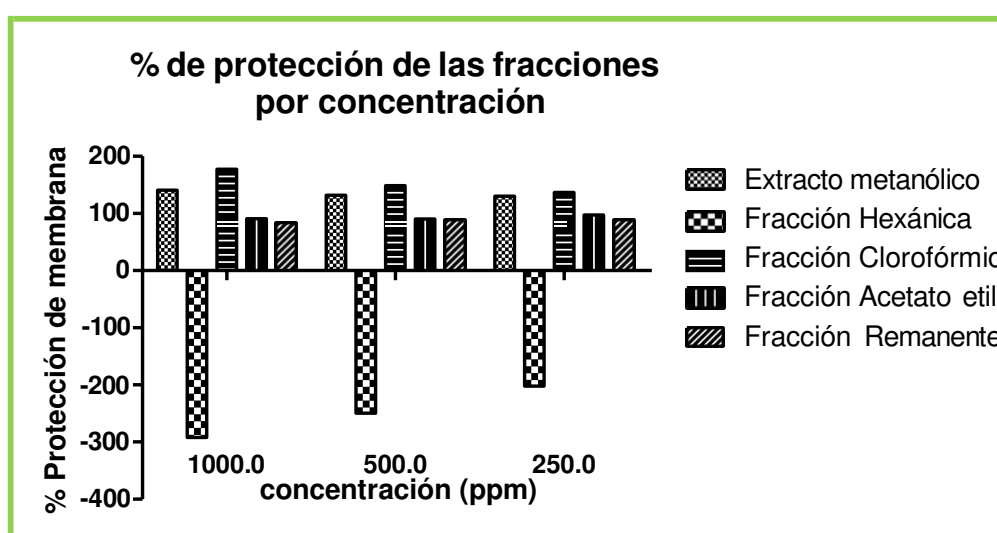
El IC<sub>50</sub> es 22.8 ppm

La ecuación de la curva es:

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

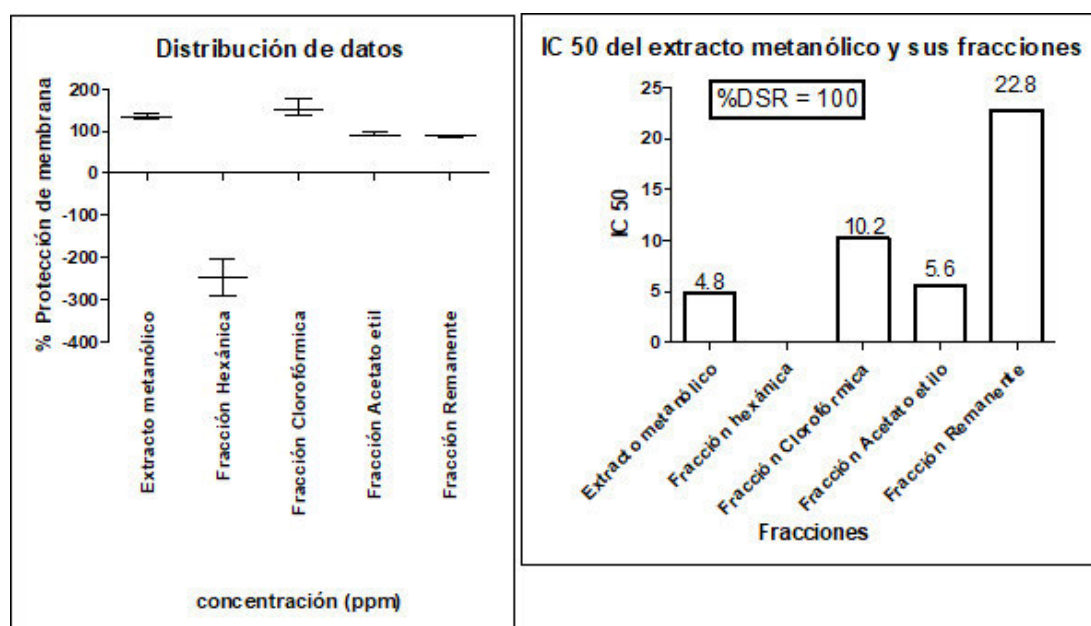
$$a = -27.2 \quad b = 138.6 \quad c = -88.01$$

**Figura 112 y 113.** IC<sub>50</sub> de la fracción acetato etilo y remanente de *Dc*



**Figura 114.** Comparación de las fracciones de *Dracontium spruceanum* como

La fracción hexánica no posee actividad de protección de membrana a ninguna concentración probada



**Figura 115 y 116.** IC<sub>50</sub> y distribución de datos de las muestras de *Dracontium spruceanum* cormo

Se puede observar que todas las muestras que presentaron efecto positivo tienen la totalidad de sus datos en un rango cercano al 100% de actividad, y en la comparación de sus IC<sub>50</sub> los más potentes son el extracto metanólico y el acetato de etilo, sin embargo, todos poseen valores menores de 100 ppm, lo que evidencia la potente acción antiinflamatoria del cormo de *Dracontium spruceanum*.

El efecto antiinflamatorio de una sustancia puede deberse a varios tipos de mecanismos de acción, uno de ellos es la estabilización de la membrana celular ante agentes de lisis externos, en la evaluación de la actividad antiinflamatoria de las tres plantas estudiadas, los mejores efectos se obtuvieron con el cormo de *Dracontium spruceanum*, este efecto puede deberse entre las moléculas propuestas a la presencia de oxilipinas, los cuales se han demostrado que actúan como mediadores de la inflamación (Gilroy et al., 2016) en el caso del *Piper aduncum* que también mostró significativa actividad antiinflamatoria podría explicarse a su presencia de glucósidos megastigmanos (Chikako Masuoka et al., 2002) los cuales se están estudiando por evidenciar actividad antiinflamatoria significativa (Aquino, 2017).



#### 4.1.5 Análisis y discusión de resultados de la prueba antiproliferativa

La última evaluación experimental fue la prueba antiproliferativa mediante la medición de la citotoxicidad sobre una línea celular de cáncer gástrico (AGS) adquiridas de la ECACC (European Collection of Authenticated Cell Cultures) analizadas a las 24 y 48 horas de haber expuesto la muestra con las células.

Las absorbancias obtenidas fueron procesadas con la fórmula de porcentaje de diferencia de reducción entre células tratadas y células control, que ya se explicó en la metodología, y luego a este valor se le resta el 100% para obtener así el porcentaje de inhibición del crecimiento celular o porcentaje de citotoxicidad (T. Riss et al., 2016)

**Tabla 35.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Buddleja incana* evaluados a las 24 horas.

concentración ppm	Extracto metanólico de <i>Buddleja incana</i> 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	-229,095	-222,852	-189,107	-199,197	-202,647	-238,657
15	5,962	16,842	19,871	-36,265	-65,083	-16,482
31	12,324	-9,567	-41,573	-103,293	-89,200	-45,945
62.5	10,814	-24,064	-36,603	-78,329	-77,855	-23,484
125	-55,211	-104,525	-74,504	-57,245	-18,861	6,863
250	73,356	47,479	54,215	76,508	69,238	71,246
500	94,077	95,297	93,493	94,764	94,738	93,315
1000	92,243	96,234	95,954	95,598	95,319	94,454
concentración ppm	Fracción hexánica de <i>Buddleja incana</i> 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	13,230	36,987	24,696	37,570	10,896	38,274
15	6,397	7,966	12,733	15,248	25,688	31,220
31	12,935	12,693	15,570	15,409	10,983	51,658
62.5	54,846	33,222	29,058	31,592	51,929	55,953
125	66,874	69,063	71,892	73,440	66,750	78,102
250	91,631	90,208	90,706	91,756	91,898	93,321
500	96,966	96,557	96,931	96,877	95,916	96,326
1000	96,180	96,091	95,397	95,575	96,394	96,145
concentración ppm	Fracción clorofórmica de <i>Buddleja incana</i> 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	6,343	25,386	18,900	19,829	20,469	25,499
15	33,357	16,780	18,974	21,249	19,119	38,643
31	38,218	28,112	26,750	32,372	26,799	44,241
62.5	74,347	64,256	67,171	67,636	70,359	76,092

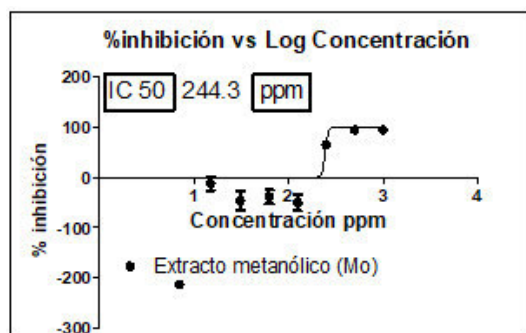
<b>125</b>	95,848	99,168	97,729	93,317	95,662	96,684
<b>250</b>	100,201	100,851	100,689	100,294	99,644	100,155
<b>500</b>	104,187	103,583	103,653	103,305	103,003	103,467
<b>1000</b>	104,508	103,161	102,279	100,422	105,390	101,165
<b>concentración ppm</b>	<b>Fracción acetato de etilo de Buddleja incana 24 horas</b>					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	19,387	-2,338	10,076	14,543	21,064	5,154
<b>15</b>	4,193	7,657	12,108	19,601	9,318	8,362
<b>31</b>	21,443	27,603	29,107	19,013	23,371	41,459
<b>62.5</b>	34,345	34,220	43,186	35,066	43,656	68,421
<b>125</b>	60,117	53,131	53,491	58,183	55,739	54,150
<b>250</b>	79,736	87,502	93,319	93,753	88,911	92,584
<b>500</b>	99,165	100,065	99,855	99,660	98,371	99,780
<b>1000</b>	100,445	97,416	100,175	99,740	99,530	99,081
<b>concentración ppm</b>	<b>Extracto metanólico de Buddleja incana 24 horas</b>					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	31,478	69,716	69,930	67,525	56,035	23,996
<b>15</b>	-19,284	10,083	13,744	14,706	53,932	44,420
<b>31</b>	-11,218	-35,802	-11,379	11,414	26,378	34,662
<b>62.5</b>	-11,936	-44,135	-22,116	-9,023	2,975	3,082
<b>125</b>	28,570	45,230	46,019	28,368	31,524	32,662
<b>250</b>	16,996	18,592	21,344	19,565	38,921	28,170
<b>500</b>	40,747	41,939	49,242	42,490	58,507	46,068
<b>1000</b>	100,122	99,278	100,489	100,177	100,379	99,278

**Tabla 36.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Buddleja incana* evaluados a las 48 horas

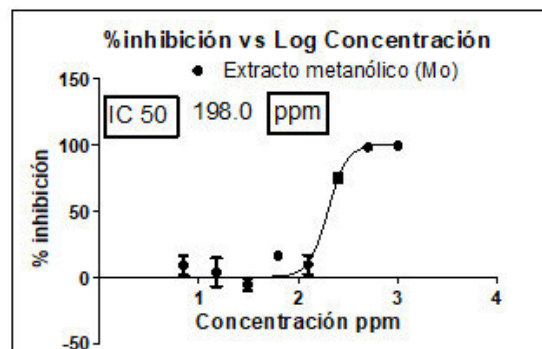
<b>concentración ppm</b>	<b>Extracto metanólico de <i>Buddleja incana</i> 48 horas</b>					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	21,478	34,702	3,936	14,561	-8,847	-13,701
<b>15</b>	19,087	-42,845	23,386	27,036	-3,596	-2,048
<b>31</b>	16,217	-11,223	-5,605	-5,300	-20,319	-6,179
<b>62.5</b>	21,071	15,567	16,561	21,338	5,994	15,300
<b>125</b>	-3,293	42,167	2,865	-2,025	-2,822	19,165
<b>250</b>	78,966	81,375	62,938	83,349	75,688	66,053
<b>500</b>	98,669	98,995	99,647	98,741	99,303	92,801
<b>1000</b>	98,467	99,662	99,897	100,278	99,010	98,141
<b>concentración ppm</b>	<b>Fracción hexánica de <i>Buddleja incana</i> 48 horas</b>					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	27,806	30,044	51,142	64,675	42,661	57,843
<b>15</b>	18,659	32,402	36,446	37,009	1,854	15,898
<b>31</b>	25,877	24,019	42,565	36,937	22,998	61,333

62.5	52,350	41,147	62,363	63,881	42,259	50,230
125	99,532	99,439	99,923	99,272	98,956	98,082
250	99,433	100,548	101,422	98,410	99,396	98,987
500	98,299	99,656	100,177	99,470	99,991	98,875
1000	99,399	100,105	100,384	99,510	99,417	100,198
<b>concentración</b>						
Fracción clorofórmica de <i>Buddleja incana</i> 48 horas						
<b>ppm</b>	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	22,354	6,269	-1,700	-11,228	1,012	2,721
15	6,083	8,330	-26,199	-11,488	-22,837	-5,619
31	10,751	1,854	-18,094	-8,733	-34,700	28,564
62.5	97,319	97,319	97,319	97,319	97,319	97,319
125	99,230	99,550	99,962	99,794	98,498	98,666
250	100,257	100,836	101,217	99,647	100,058	99,128
500	99,921	99,464	99,525	99,189	100,394	99,860
1000	98,493	97,075	97,959	97,776	98,844	97,974
<b>concentración</b>						
Fracción acetato de etilo de <i>Buddleja incana</i> 48 horas						
<b>ppm</b>	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	36,365	23,963	32,638	22,875	26,204	42,626
15	33,416	24,807	22,512	28,773	33,084	36,533
31	39,226	34,159	37,621	55,594	43,351	45,009
62.5	60,047	62,633	59,025	66,984	78,365	63,681
125	49,152	55,561	47,795	48,895	56,454	59,443
250	98,663	98,457	99,556	97,941	99,109	98,491
500	96,352	97,555	97,452	97,211	98,259	97,280
1000	94,273	97,572	99,204	100,630	99,238	98,414
<b>concentración</b>						
Extracto metanólico de <i>Buddleja incana</i> 48 horas						
<b>ppm</b>	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	53,967	22,518	25,621	26,058	29,758	45,513
15	46,673	14,011	10,987	17,571	26,861	47,250
31	40,646	19,043	10,311	43,749	42,038	44,107
62.5	15,227	41,206	29,828	17,734	5,520	18,131
125	-4,585	-0,548	-4,037	10,651	1,724	25,035
250	33,511	11,418	9,653	22,597	33,004	36,473
500	63,516	36,453	47,956	43,128	43,878	59,418
1000	99,003	100,199	102,188	100,321	99,408	99,287

A continuación, se muestran las gráficas del cálculo de los IC<sub>50</sub> del extracto metanólico de *Buddleja incana* y sus fracciones analizados en 24 y 48 horas.

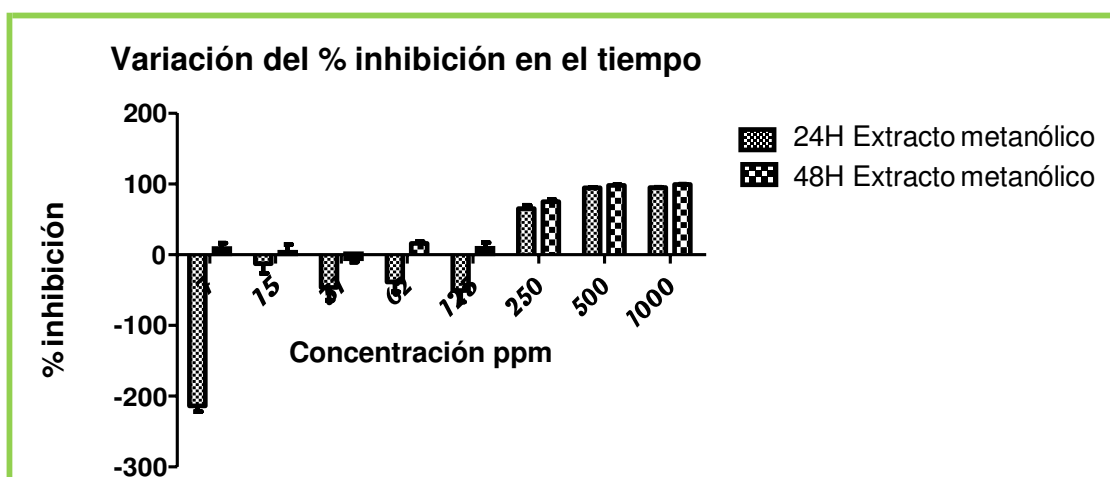


**Figura 117.** IC<sub>50</sub> de Mo-Bi a 24 horas

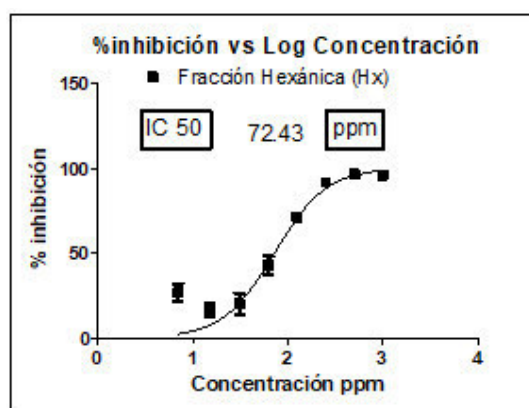


**Figura 118.** IC<sub>50</sub> de Mo-Bi a 48 horas

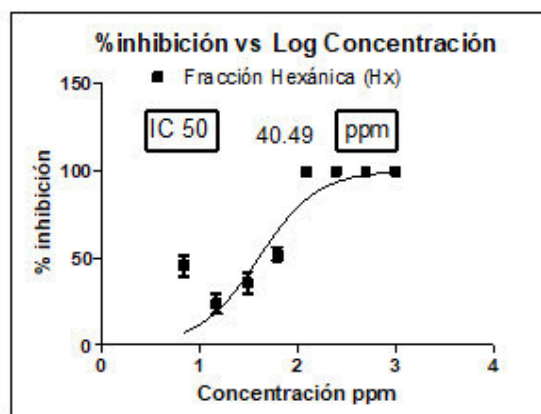
Se observa a partir de 250 ppm muestran efectos en ambos tiempos y la variación entre los resultados entre los dos puntos no se muestra significativa.



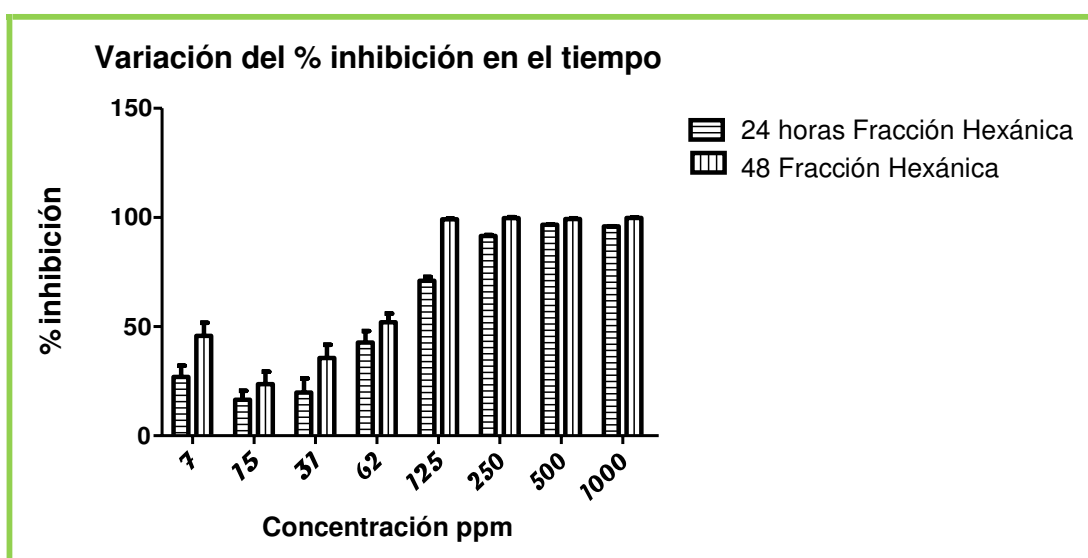
**Figura 119.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Bi



**Figura 120.** IC<sub>50</sub> de Hx-Bi a 24 horas

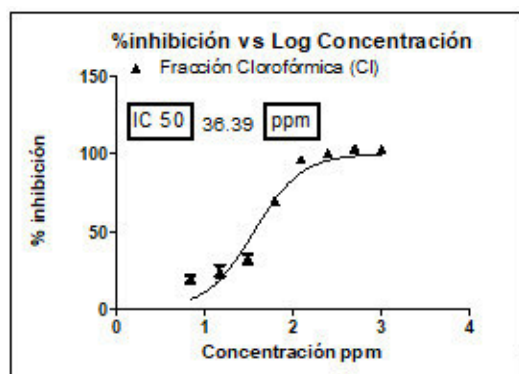


**Figura 121.** IC<sub>50</sub> de Hx-Bi a 48 horas

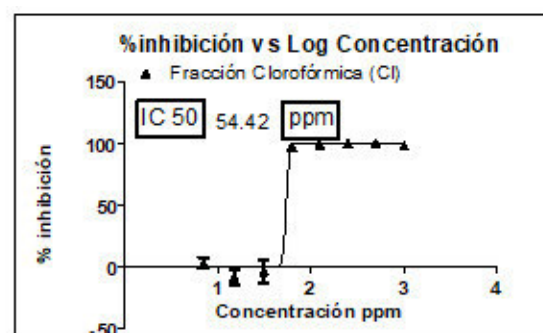


**Figura 122.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Bi

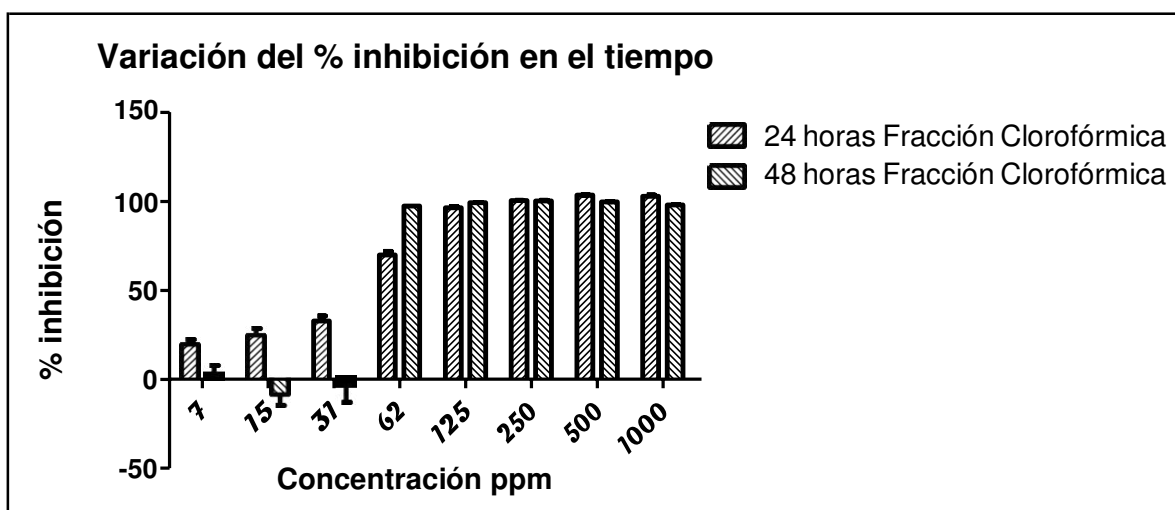
En el caso de la fracción hexánica se muestra que desde las concentraciones de 7 ppm ya se evidencia efecto citotóxico y alcanza valores cercanos al 100% desde los 125 ppm.



**Figura 123.** IC<sub>50</sub> de Cl-Bi a 24 horas

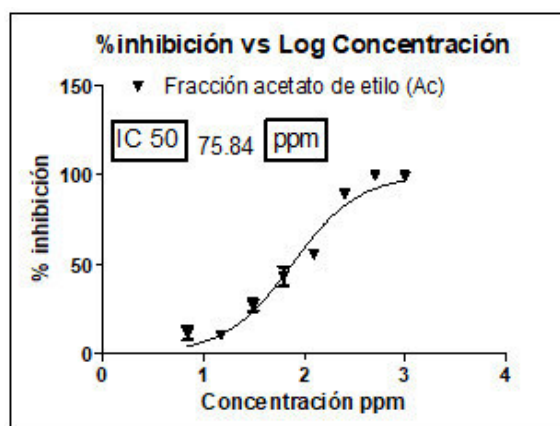


**Figura 124.** IC<sub>50</sub> de Cl-Bi a 48 horas

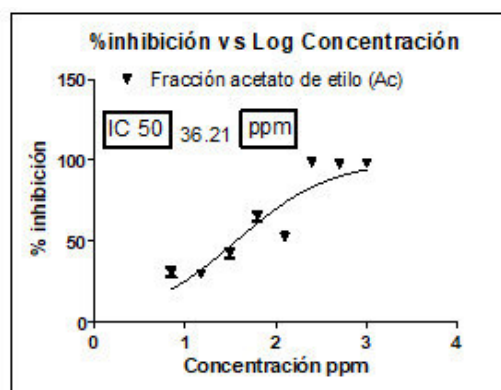


**Figura 125.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Cl-Bi

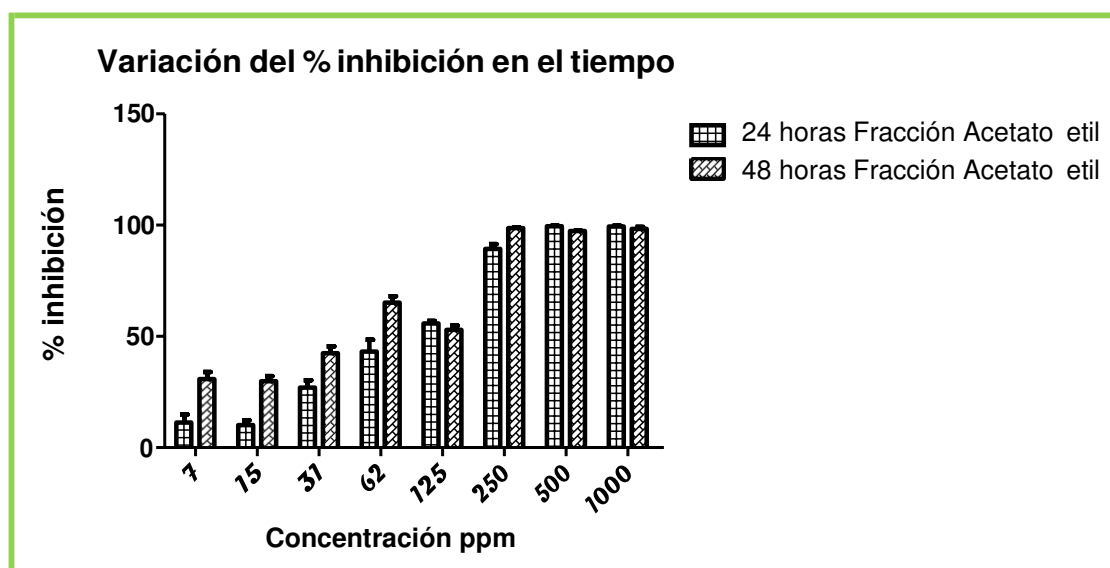
Se puede visualizar que en el caso de la fracción clorofórmica evidencia acción a partir de 62.5 ppm para ambos tiempos, sin embargo en el caso del tiempo 24 horas el efecto ya se visualizaba desde los 7 ppm, y en el caso de las 48 horas el efecto positivo en las concentraciones de 7, 15 y 31 ppm fueron negativas, esto quiere decir que primero (24 horas) se evidenció un efecto positivo para estas tres concentraciones y después de 24 horas (48 horas) el efecto disminuyó considerablemente, este efecto evidencia una recuperación de las células cancerosas después de haber sido expuestas al extracto (T. L. Riss & Moravec, 2004)



**Figura 126.** IC<sub>50</sub> de Ac-Bi a 24 horas

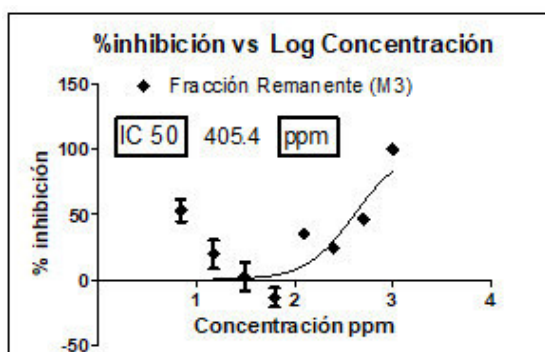


**Figura 127.** IC<sub>50</sub> de Ac-Bi a 48 horas

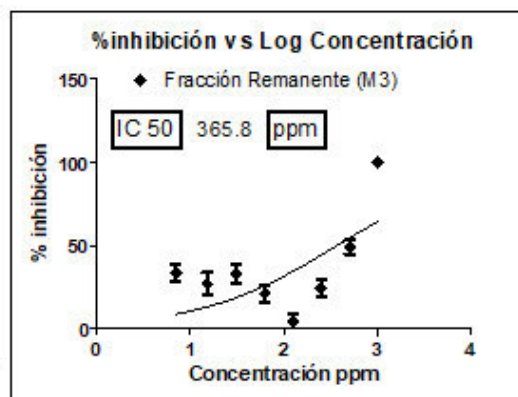


**Figura 128.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-Bi

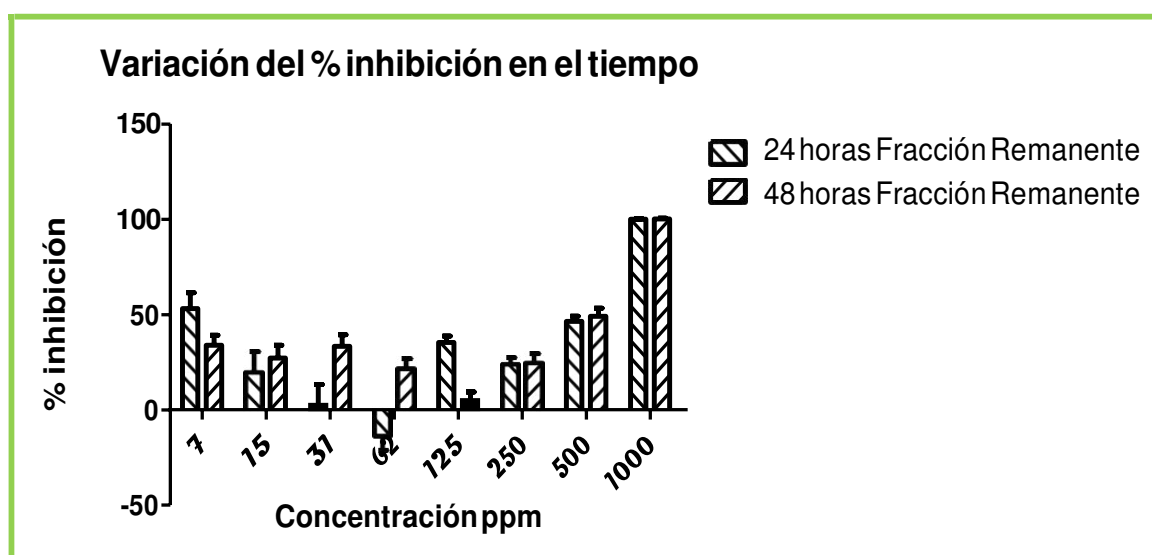
En el caso de la fracción de acetato de etilo puede notarse que el efecto en las primeras 24 horas es menor que el efecto en las 48 horas, lo que evidencia que la efectividad aumenta con el tiempo, esta información resulta importante pues si el extracto resultara tóxico para células normales a una determinada concentración podría usarse una concentración menor, pero esperar más tiempo para generar el mismo efecto.



**Figura 129.** IC<sub>50</sub> de M3-Bi a 24 horas



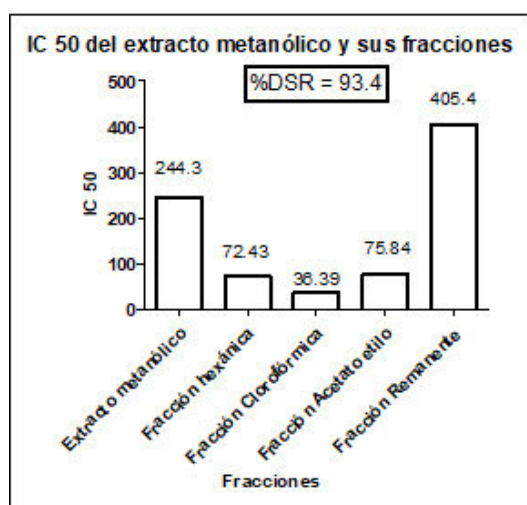
**Figura 130.** IC<sub>50</sub> de M3-Bi a 48 horas



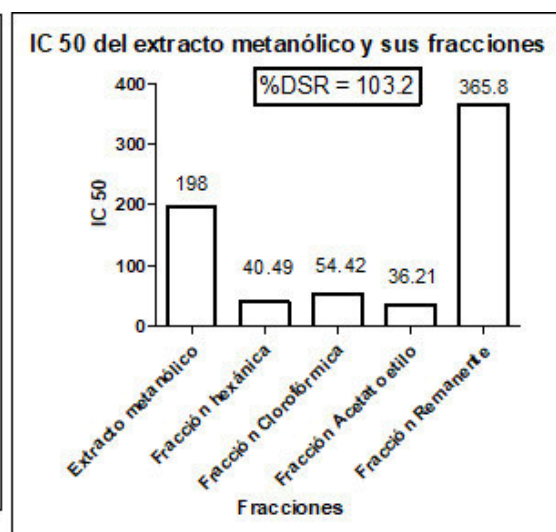
**Figura 131.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Bi

En el caso de la fracción remanente se observa un comportamiento de disminución de efecto a las 24 horas conforme aumenta la concentración hasta los 125 ppm, en el cual empieza a aumentar el efecto, esto se corrige a las 48 horas donde el efecto se mantiene con el aumento de la concentración y tiende a aumentar después de los 25 ppm, generalmente este tipo de comportamientos se observa por la presencia de algún compuesto que interactúa con otro metabolito y recién puede hacerse visible en el tema de generar un efecto a una determinada concentración. (Monroy, Cortés, Sicard, & De Restrepo, 2005)

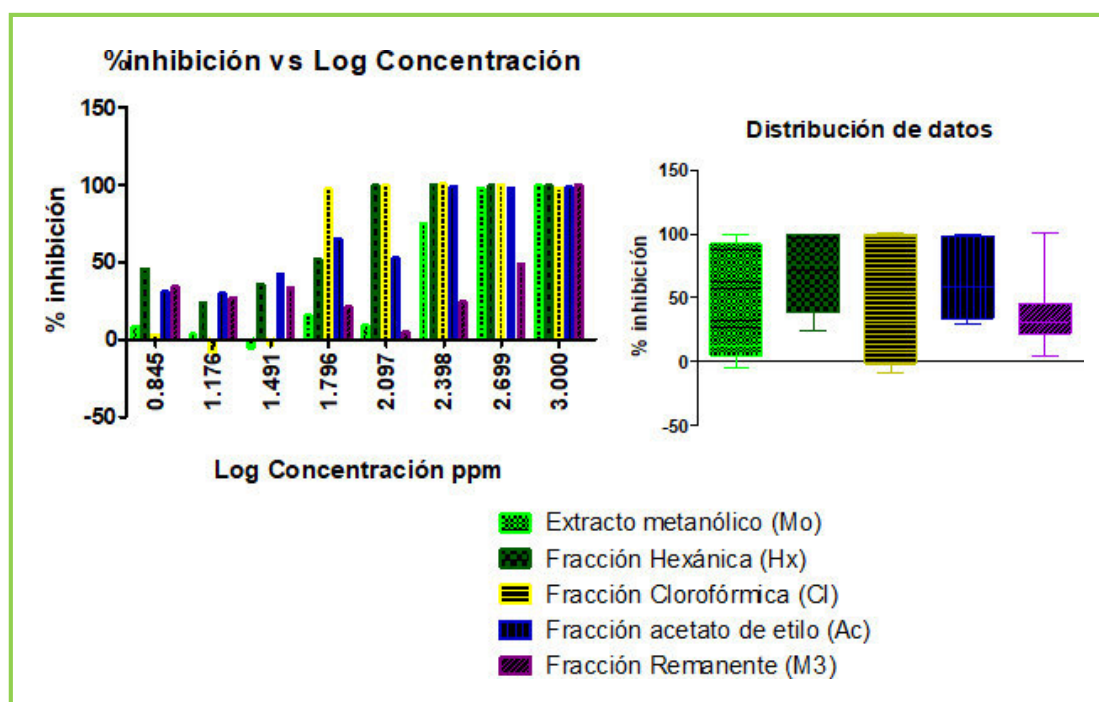




**Figura 132.** Variación de IC<sub>50</sub> Bi a 24 horas



**Figura 133.** Variación de IC<sub>50</sub> Bi a 48 horas



**Figura 134.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Bi 48 horas

**Tabla 37.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Piper aduncum* evaluados a las 24 horas

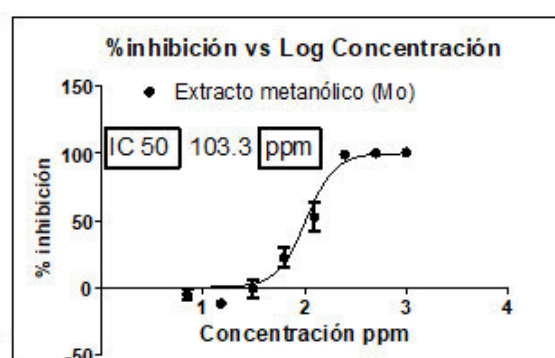
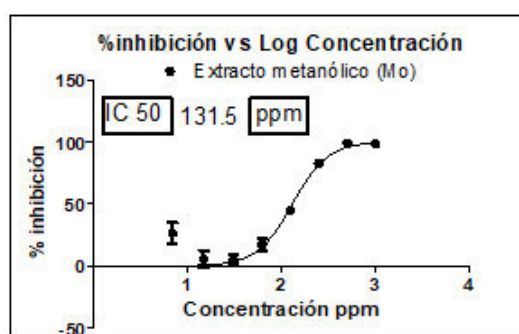
concentración ppm	Extracto metanólico de <i>Piper aduncum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	24,672	61,617	22,143	4,848	35,153	9,442
15	-0,273	9,745	-19,074	-1,470	25,148	20,400
31	4,639	8,307	1,087	-8,216	3,925	22,455
62.5	19,431	36,668	9,317	1,808	13,833	20,802
125	51,366	52,223	41,571	43,441	32,030	47,628
250	79,738	83,205	81,140	81,452	80,673	88,813
500	99,299	98,929	99,669	97,780	98,559	99,669
1000	100,610	96,385	98,118	96,638	98,507	99,130
concentración ppm	Fracción hexánica de <i>Piper aduncum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	-19,061	-11,242	-5,109	-7,704	-3,879	-1,064
15	6,535	-4,367	-3,053	-3,609	8,170	7,429
31	13,672	6,021	-0,5 <sub>50</sub>	1,960	12,425	23,092
62.5	29,447	30,037	34,503	40,232	37,553	42,894
125	65,761	-44,561	68,359	56,977	63,612	49,595
250	96,399	97,988	96,997	97,315	97,894	97,614
500	97,798	98,489	97,443	98,059	97,891	97,854
1000	101,480	100,863	99,106	101,423	100,956	101,199
concentración ppm	Fracción clorofórmica de <i>Piper aduncum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	2,274	-6,812	12,706	10,906	7,810	19,689
15	-78,261	-93,640	-99,462	-63,707	-75,586	-68,603
31	24,975	6,399	28,626	8,149	19,759	25,480
62.5	3,205	-14,125	-7,647	-3,323	-19,896	-0,496
125	57,363	38,352	50,831	41,070	47,407	41,145
250	55,789	52,831	51,599	55,804	52,080	54,633
500	79,204	71,455	75,359	74,248	73,692	65,207
1000	97,675	97,720	98,155	98,666	98,726	98,831
concentración ppm	Fracción acetato de etilo de <i>Piper aduncum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	18,223	2,627	7,687	25,623	11,752	2,926
15	9,736	6,402	19,608	24,055	15,826	33,014
31	17,308	12,330	0,102	14,985	26,101	30,963
62.5	29,223	12,615	18,522	31,015	29,505	30,136
125	27,839	3,788	15,736	25,254	8,457	25,280
250	20,559	14,090	9,704	29,820	35,929	-61,768
500	44,283	19,498	24,540	18,379	21,248	38,251
1000	51,651	43,599	52,975	55,316	50,712	59,882
concentración ppm	Fracción remanente de <i>Piper aduncum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	30,945	15,2 <sub>50</sub>	27,274	33,488	14,284	13,093

15	32,278	-7,016	5,331	11,915	-0,754	-1,816
31	3,917	-8,687	-3,633	-0,075	-4,679	13,012
62.5	0,327	-22,161	11,161	14,075	12,916	2,356
125	26,299	22,987	28,365	23,902	31,469	34,227
250	13,874	21,635	14,207	37,658	27,720	34,082
500	30,781	22,229	28,563	-14,500	33,525	11,210
1000	-41,220	51,296	46,819	-61,954	1,414	27,304

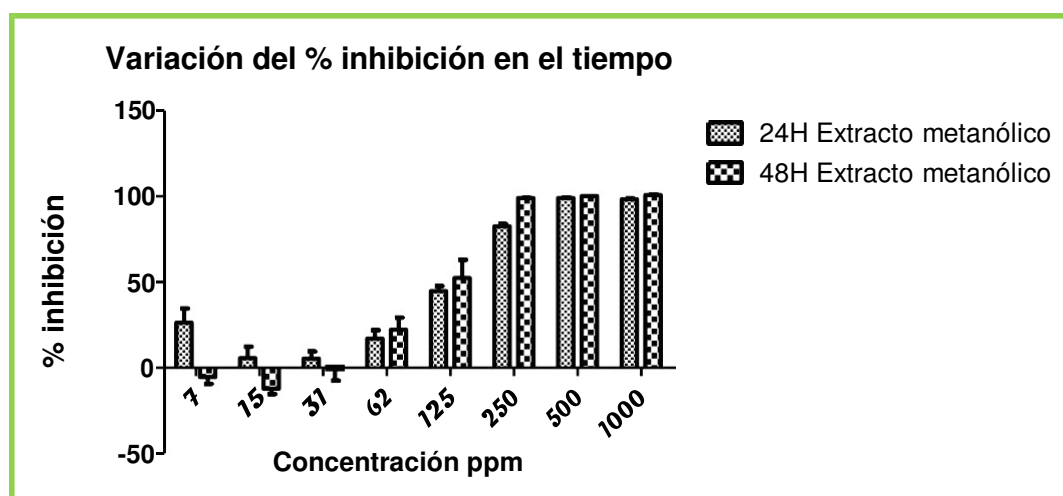
**Tabla 38.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de *Piper aduncum* evaluados a las 48 horas

concentración ppm	Extracto metanólico de <i>Piper aduncum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	-17,596	-10,7 <sub>50</sub>	0,667	-11,407	8,346	-1,833
15	-11,815	-3,985	-17,941	-20,202	-2,090	-16,804
31	17,476	21,151	-18,520	-5,536	-11,636	-8,113
62.5	34,179	21,839	21,675	-8,574	42,527	21,966
125	86,798	71,142	16,186	29,851	52,655	57,6 <sub>50</sub>
250	99,640	99,620	98,960	98,826	98,262	98,931
500	100,155	100,155	100,155	100,155	100,155	100,155
1000	101,112	100,126	100,834	100,576	100,557	101,839
concentración ppm	Fracción hexánica de <i>Piper aduncum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	-8,966	5,066	-6,183	-11,127	-9,389	-21,575
15	-23,460	-10,221	-9,311	-4,069	-8,555	-13,886
31	-28,321	13,289	-17,144	-10,452	-12,830	-12,334
62.5	9,671	-9,656	-17,087	40,104	<sub>50</sub> ,669	4,376
125	97,616	98,381	98,228	97,973	97,752	98,041
250	99,537	100,285	100,106	99,477	99,503	99,103
500	99,359	99,521	99,104	99,589	99,827	99,461
1000	101,209	99,313	100,784	100,554	100,605	99,432
concentración ppm	Fracción clorofórmica de <i>Piper aduncum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	18,344	35,921	29,043	15,976	22,835	28,713
15	23,176	27,922	22,063	4,411	43,867	30,875
31	22,238	4,340	4,500	15,162	11,529	7,453
62.5	4,857	10,490	1,593	0,253	23,953	-3,049
125	74,147	68,567	56,923	65,514	73,459	68,546
250	98,144	97,896	96,714	97,380	98,348	97,929
500	99,242	98,812	99,199	98,522	98,769	98,919
1000	99,525	98,859	99,4 <sub>50</sub>	98,977	98,686	98,063
concentración ppm	Fracción acetato de etilo de <i>Piper aduncum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	10,793	4,575	10,414	11,569	22,755	10,258
15	9,113	7,026	8,794	14,813	33,113	8,664

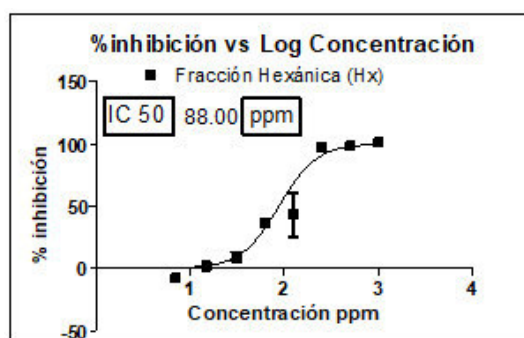
31	16,491	-0,378	9,885	14,128	28,754	5,736
62.5	13,287	-2,590	20,764	8,552	7,767	-13,448
125	26,973	13,200	12,681	14,163	32,404	14,015
250	27,903	0,632	26,982	24,388	25,193	18,163
500	8,222	-6,758	-2,714	38,596	21,477	-0,649
1000	99,951	99,876	100,109	100,480	100,226	100,194
Fracción remanente de <i>Piper aduncum</i> a 48 horas						
concentración ppm	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	21,082	0,602	7,736	14,966	15,421	-11,786
15	1,055	-2,978	-8,329	-7,659	-4,295	0,577
31	27,704	9,294	13,723	-16,344	6,290	-13,735
62.5	26,040	27,189	5,141	11,293	32,049	15,531
125	30,918	21,349	20,612	18,758	21,778	8,122
250	18,171	16,417	11,632	6,798	25,747	21,510
500	24,180	17,940	22,067	16,834	24,260	6,667
1000	25,185	31,844	17,101	19,394	24,577	14,839



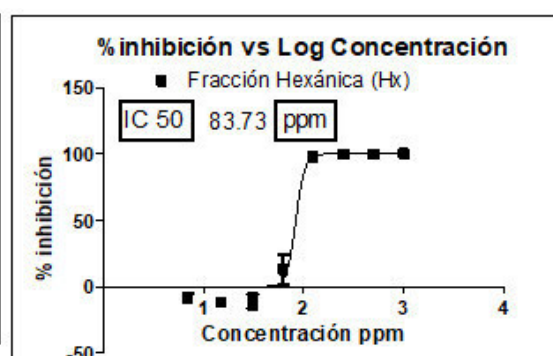
**Figura 135.** IC<sub>50</sub> de Mo-Pa a 24 horas **Figura 136.** IC<sub>50</sub> de Mo-Pa a 48 horas



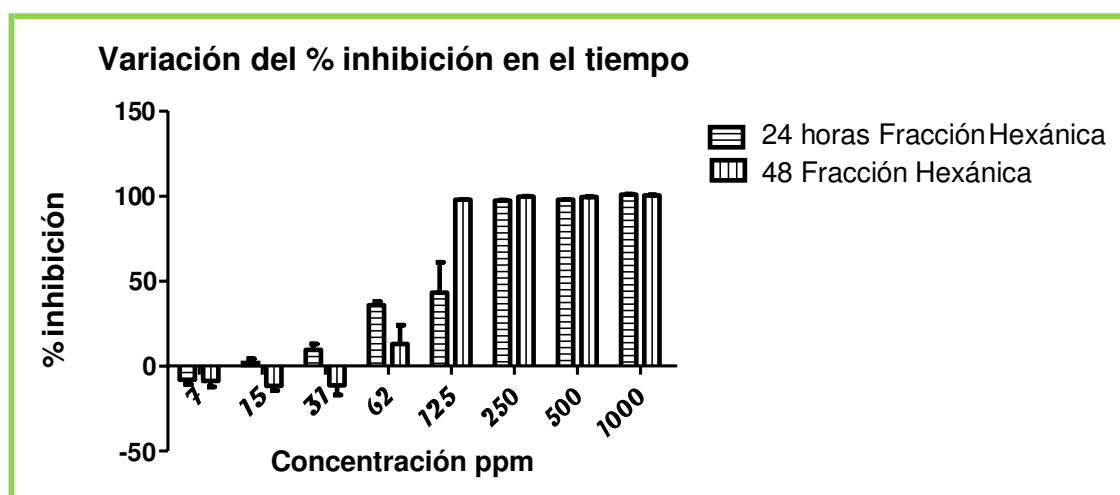
**Figura 137.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Pa



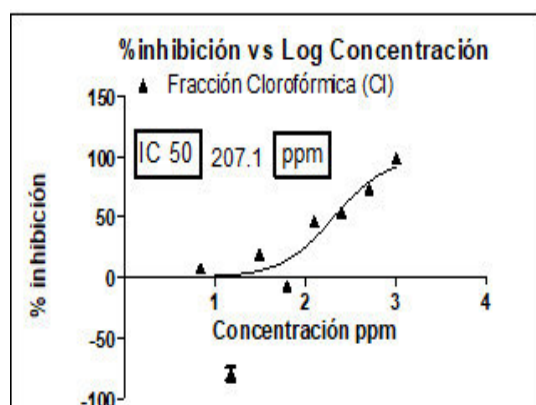
**Figura 138.** IC<sub>50</sub> de Hx-Pa a 24 horas



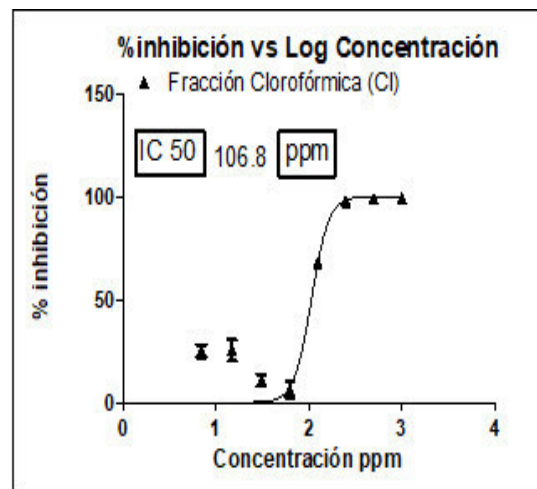
**Figura 139.** IC<sub>50</sub> de Hx-Pa a 48 horas



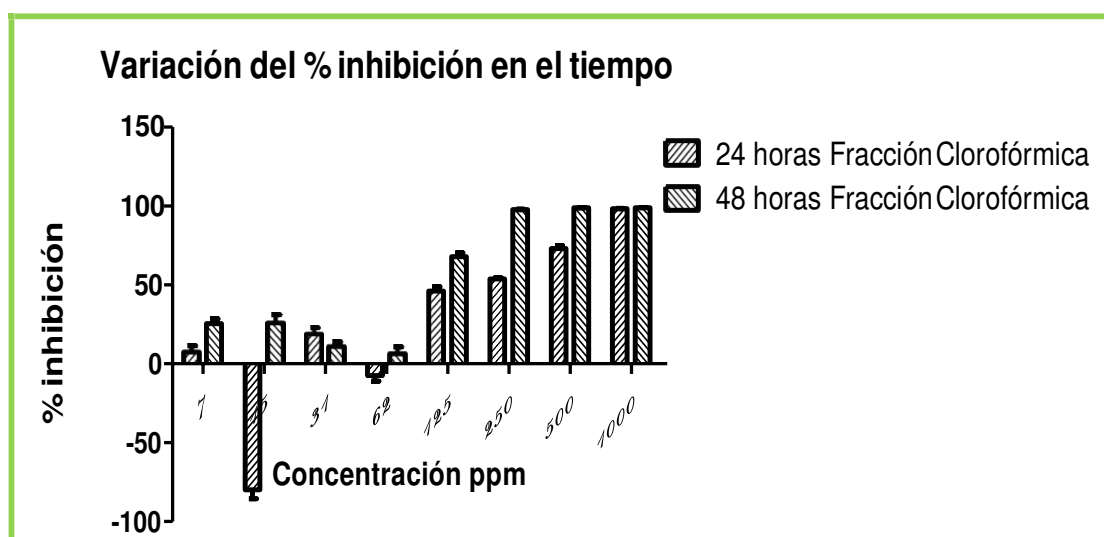
**Figura 140.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Pa



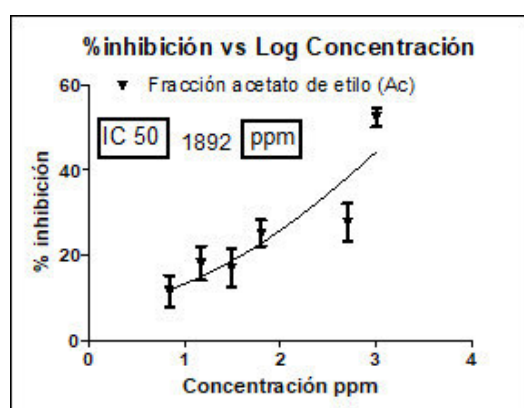
**Figura 141.** IC<sub>50</sub> de Cl-Pa a 24 Horas.



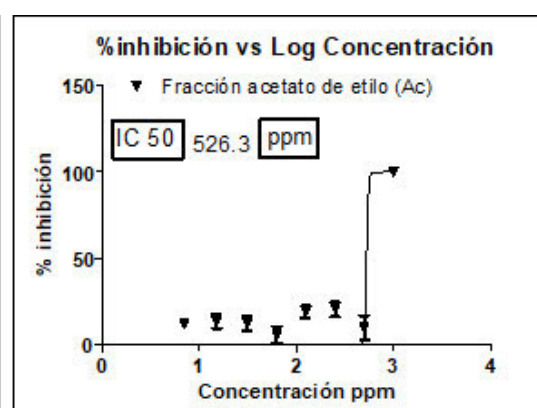
**Figura 142.** IC<sub>50</sub> de Cl-Pa a 48 horas.



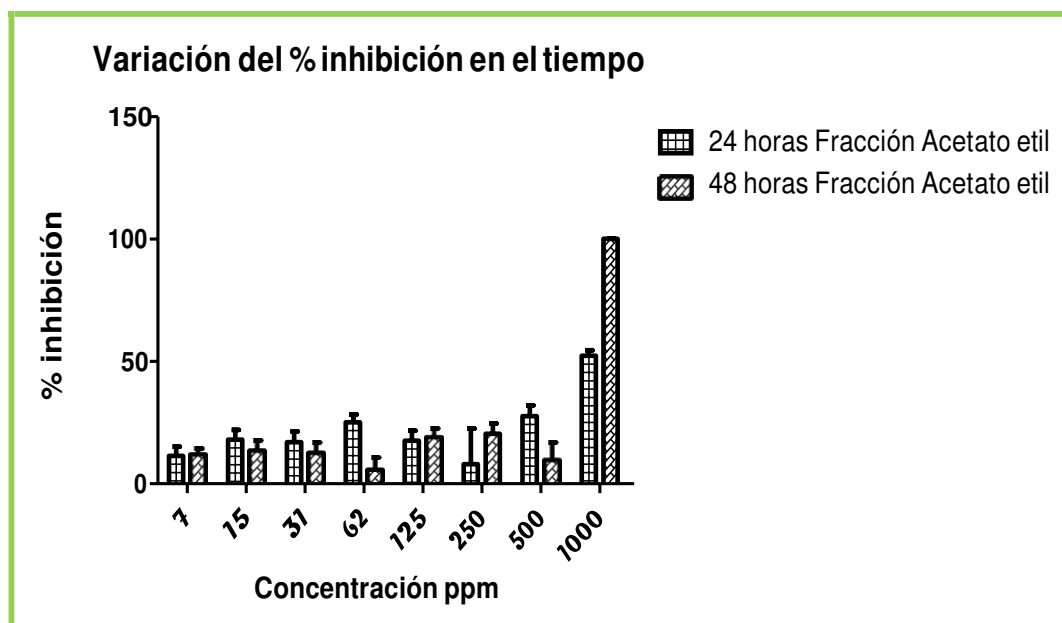
**Figura 143.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Cl-Pa



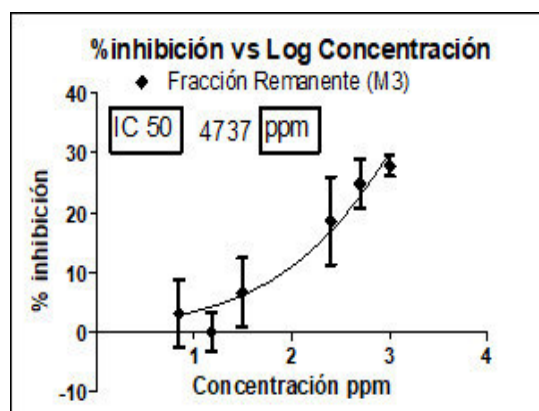
**Figura 144.** IC<sub>50</sub> de Ac-Pa a 24 horas



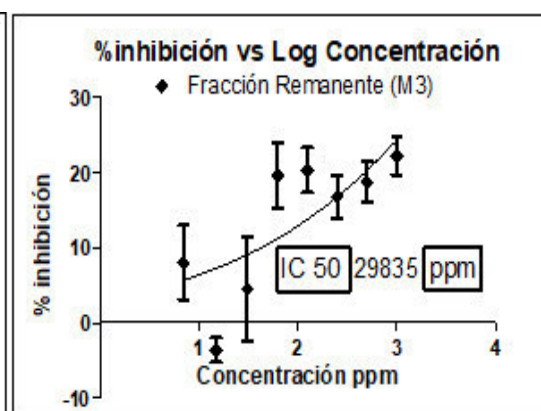
**Figura 145.** IC<sub>50</sub> de Ac-Pa a 48 horas



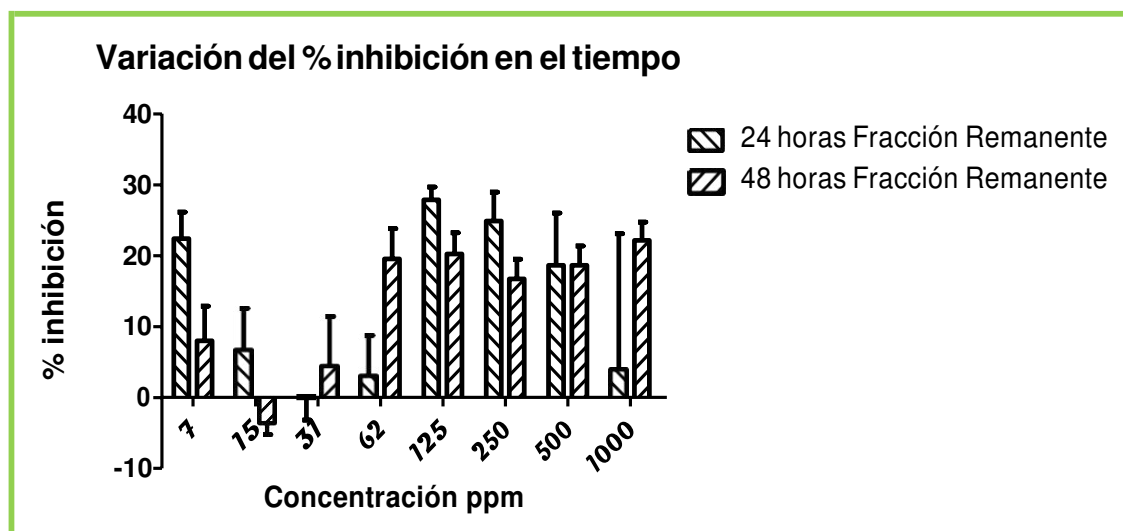
**Figura 146.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-Pa



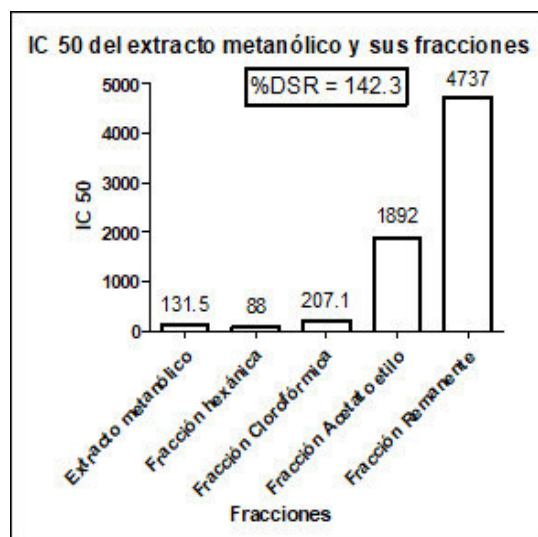
**Figura 147.** IC<sub>50</sub> de M3-Pa a 24 horas



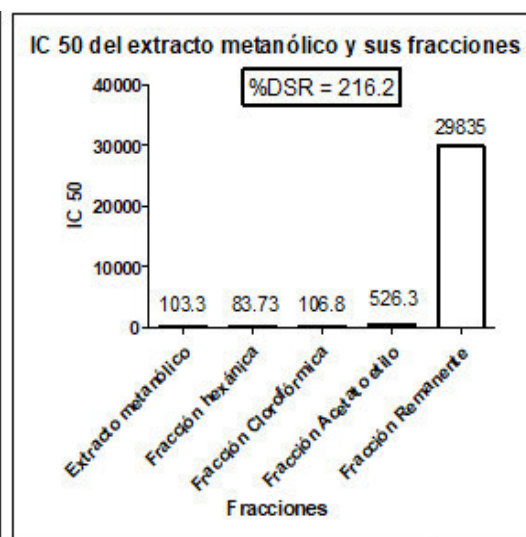
**Figura 148.** IC<sub>50</sub> de M3-Pa a 48 horas



**Figura 149.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Pa

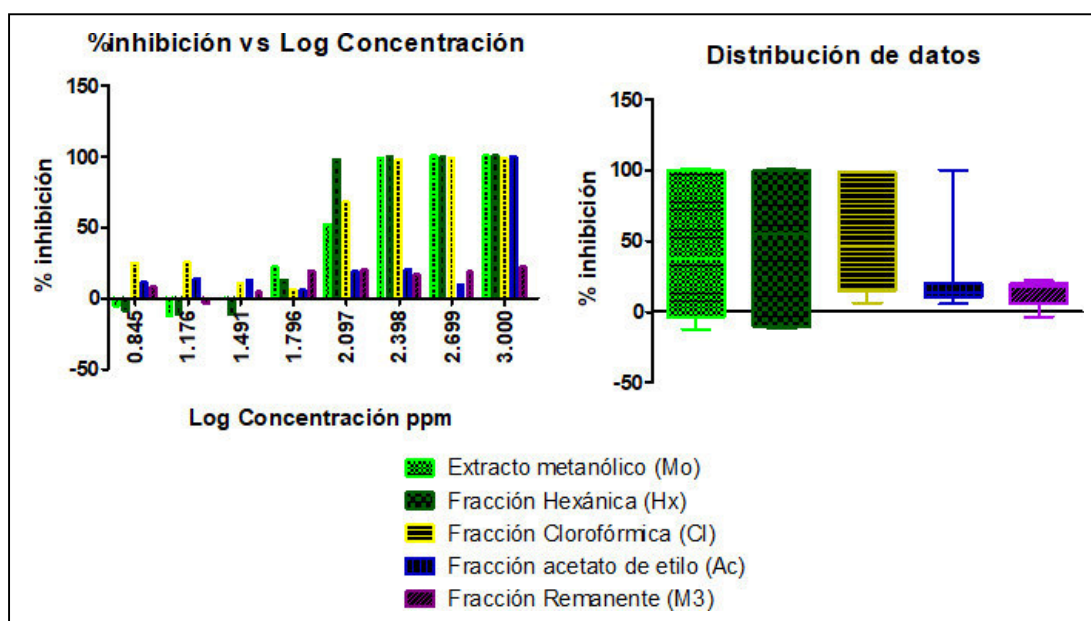


**Figura 150.** Variación de IC<sub>50</sub> Pa a 24 horas



**Figura 151.** Variación de IC<sub>50</sub> Pa a 24 horas





**Figura 152.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Pa

**Tabla 39.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de hojas de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 24 horas

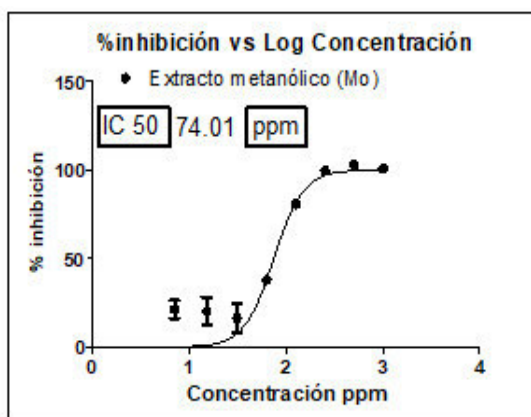
concentración ppm	<b>Extracto metanólico de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas</b>					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	4,377	10,613	31,249	34,354	30,649	16,687
15	-7,123	6,531	48,014	30,023	14,243	30,634
31	0,374	7,131	20,149	4,853	11,314	54,158
62	32,391	41,904	37,847	36,132	34,356	45,035
125	74,261	85,504	84,240	82,074	73,697	85,218
250	100,312	99,479	99,640	99,411	98,906	100,111
500	103,627	100,764	103,006	102,510	102,801	105,260
1000	101,574	100,994	100,581	99,086	100,307	101,426
concentración ppm	<b>Fracción hexánica de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas</b>					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	24,885	5,929	-1,524	-6,246	-4,825	6,359
15	23,779	5,224	4,975	-5,822	0,772	15,983
31	49,134	46,401	36,000	34,272	32,886	41,207
62	60,673	51,928	50,591	38,833	47,930	52,517
125	97,008	97,632	98,799	97,634	97,563	99,441
250	99,786	100,268	100,655	100,117	100,408	100,168
500	99,034	99,782	99,739	99,977	99,583	100,028
1000	96,922	96,943	97,171	93,873	102,739	100,443
concentración ppm	<b>Fracción clorofórmica de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas</b>					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	17,765	0,947	-3,888	-5,946	-2,565	9,299

15	13,762	-3,876	-9,256	-9,699	-7,473	11,402
31	5,714	0,445	-0,363	-1,197	-1,824	5,514
62	28,386	21,857	10,073	4,613	18,701	32,763
125	36,732	23,028	8,612	12,784	12,652	37,085
250	42,906	28,689	21,717	34,058	31,553	33,471
500	41,721	37,349	19,403	22,393	35,629	35,116
1000	88,238	87,697	91,711	91,938	88,179	90,989
concentración ppm	Fracción acetato etilo de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	24,243	12,789	16,612	16,749	20,612	32,067
15	26,607	12,780	17,239	12,744	18,983	39,863
31	22,679	13,747	8,749	9,610	17,962	28,908
62	25,936	23,218	15,286	14,136	21,828	35,072
125	25,325	20,260	35,108	25,709	34,927	44,937
250	19,785	16,811	16,147	11,277	13,222	27,430
500	13,817	31,853	32,293	21,907	34,038	36,669
1000	43,219	28,164	14,859	8,221	10,469	30,767
concentración ppm	Fracción remanente de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	5,500	17,386	11,988	3,922	10,743	21,637
15	22,807	14,669	14,542	15,742	23,986	29,430
31	26,179	15,546	21,167	17,925	20,177	23,804
62	30,111	22,888	25,183	24,261	24,435	26,156
125	23,736	25,097	21,356	24,253	23,797	29,554
250	27,626	23,846	21,448	25,388	27,540	29,451
500	26,210	26,007	24,783	23,511	26,786	34,999
1000	30,472	27,928	30,666	27,643	28,134	25,687

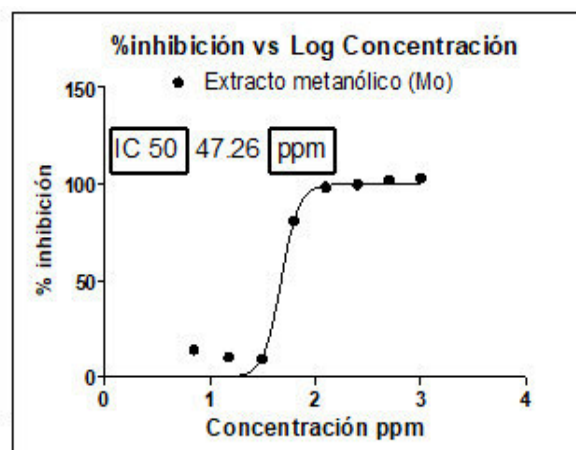
**Tabla 40.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de hojas de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 48 horas

concentración ppm	Extracto metanólico de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	13,774	15,530	14,162	12,541	14,540	15,581
15	10,540	12,862	7,455	11,232	11,083	9,234
31	10,561	11,079	7,969	5,851	10,443	11,581
62	72,734	83,011	80,970	83,608	81,436	84,476
125	97,907	98,999	98,487	99,068	97,885	98,719
250	100,276	99,962	100,475	100,145	99,652	98,816
500	103,841	100,273	101,021	102,044	101,555	104,900

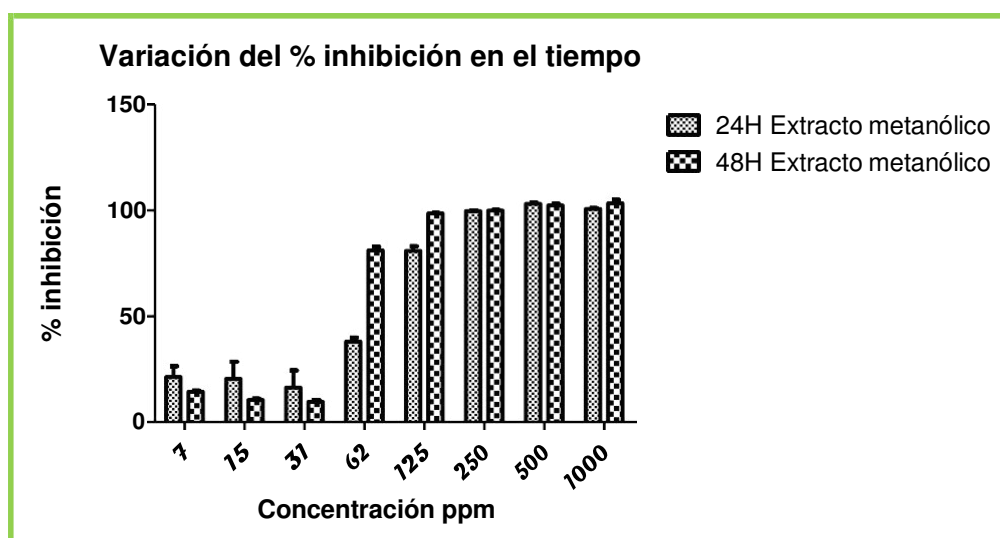
<b>1000</b>	104,658	95,130	105,243	105,182	103,983	105,684
<b>concentración ppm</b>	Fracción hexánica de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	24,011	15,578	8,711	9,055	5,640	12,066
<b>15</b>	16,140	2,475	6,616	7,174	8,349	26,093
<b>31</b>	52,292	61,775	55,212	64,835	61,807	62,035
<b>62</b>	97,626	97,319	96,621	97,456	97,385	97,980
<b>125</b>	99,757	99,915	100,170	99,745	99,098	99,551
<b>250</b>	100,893	100,767	100,967	99,960	100,701	100,052
<b>500</b>	100,557	100,301	100,016	99,984	99,986	100,366
<b>1000</b>	93,514	87,271	91,425	96,866	94,451	115,156
<b>concentración ppm</b>	Fracción clorofórmica de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	23,875	14,128	12,761	6,220	15,092	28,932
<b>15</b>	24,489	29,402	27,145	20,449	24,729	13,931
<b>31</b>	14,314	1,378	0,767	18,116	29,072	12,959
<b>62</b>	31,927	22,182	3,517	7,862	7,279	36,363
<b>125</b>	38,433	28,387	20,772	38,409	20,725	34,082
<b>250</b>	37,854	42,283	43,621	50,559	33,695	36,531
<b>500</b>	24,800	20,257	30,919	32,918	31,455	36,249
<b>1000</b>	100,259	99,886	99,623	99,687	99,775	99,833
<b>concentración ppm</b>	Fracción acetato etilo de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	20,996	18,404	12,777	7,379	6,540	17,636
<b>15</b>	21,296	11,694	16,511	8,465	7,619	16,030
<b>31</b>	29,930	35,360	32,581	11,597	18,119	37,078
<b>62</b>	23,991	21,842	26,955	32,266	26,619	27,974
<b>125</b>	18,534	34,110	15,029	8,336	38,934	41,703
<b>250</b>	43,598	18,347	6,6 <sub>50</sub>	13,8 <sub>50</sub>	16,933	25,989
<b>500</b>	13,427	28,596	9,940	5,122	14,913	7,473
<b>1000</b>	17,389	31,852	22,398	14,218	33,661	11,871
<b>concentración ppm</b>	Fracción remanente de hojas de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	<b>%dif1</b>	<b>%dif2</b>	<b>%dif3</b>	<b>%dif4</b>	<b>%dif5</b>	<b>%dif6</b>
<b>7</b>	25,434	28,521	20,397	15,367	18,058	31,123
<b>15</b>	27,895	15,886	12,444	16,629	18,145	25,304
<b>31</b>	21,464	18,653	16,675	17,075	22,845	30,268
<b>62</b>	27,275	24,211	21,385	22,802	24,100	30,970
<b>125</b>	23,062	20,037	17,781	15,991	21,396	21,484
<b>250</b>	30,551	19,828	19,036	15,702	15,721	22,239
<b>500</b>	22,719	21,371	18,871	18,683	20,983	23,4 <sub>50</sub>
<b>1000</b>	29,154	25,066	21,713	21,484	20,813	24,696



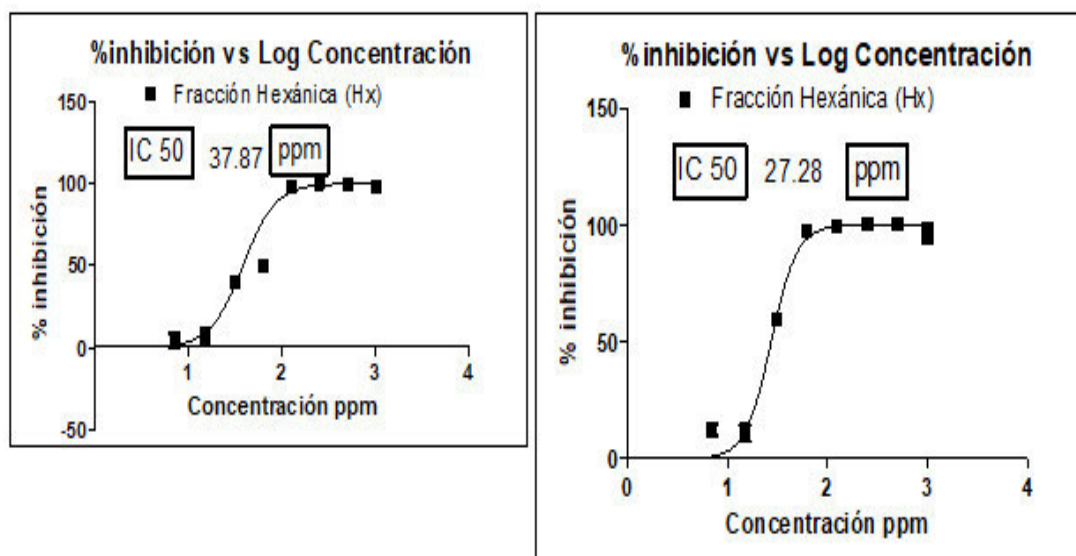
**Figura 153.** IC<sub>50</sub> de Mo-Dh a 24 horas



**Figura 154.** IC<sub>50</sub> de Mo-Dh a 48 horas

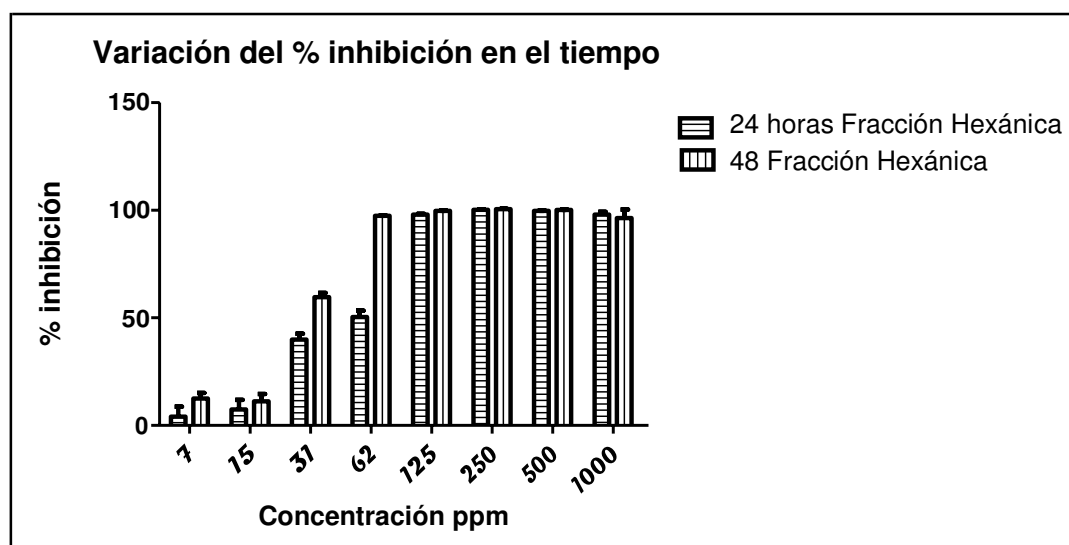


**Figura 155.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Dh

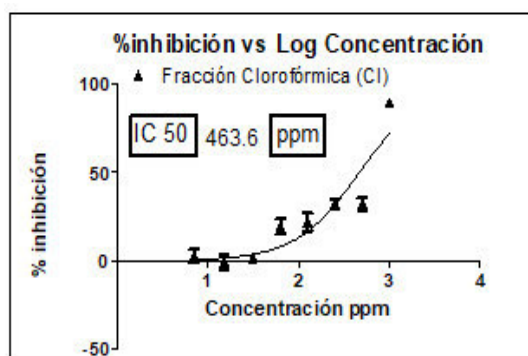


**Figura 156.** IC<sub>50</sub> de Hx-Dh a 24 horas

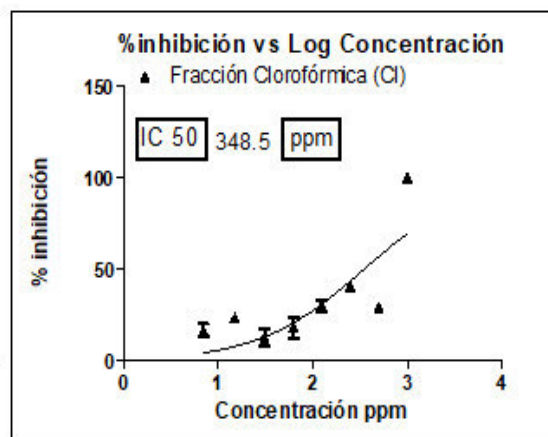
**Figura 157.** IC<sub>50</sub> de Hx-Dh a 48 horas



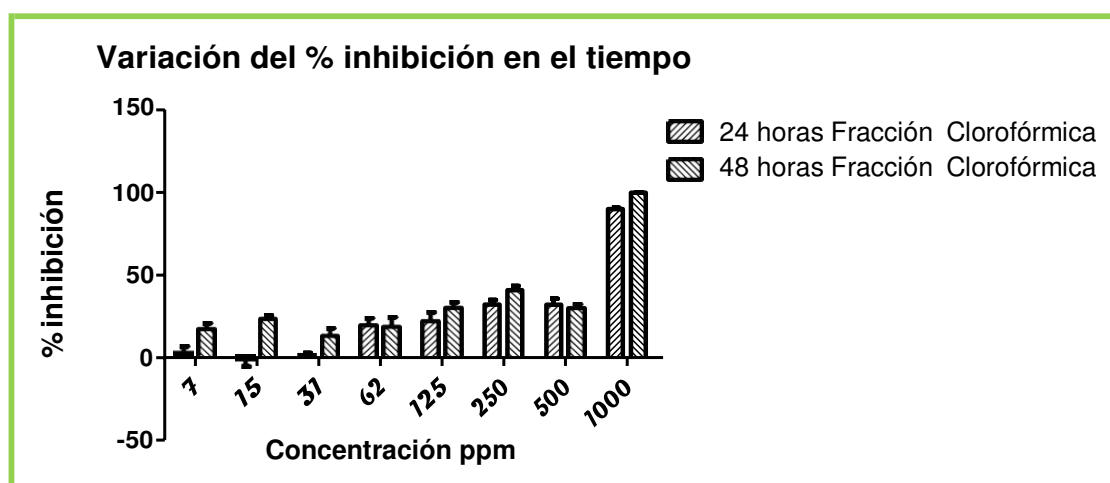
**Figura 158.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Dh



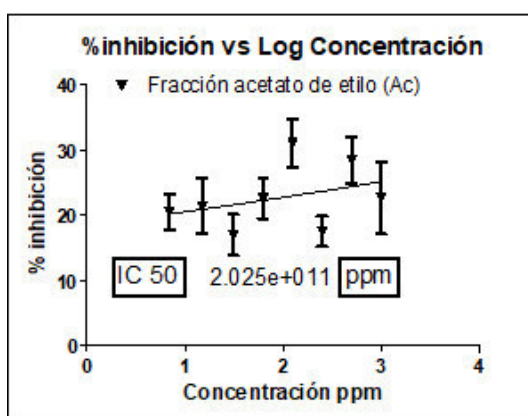
**Figura 159.** IC<sub>50</sub> de Cl-Dh a 24 horas



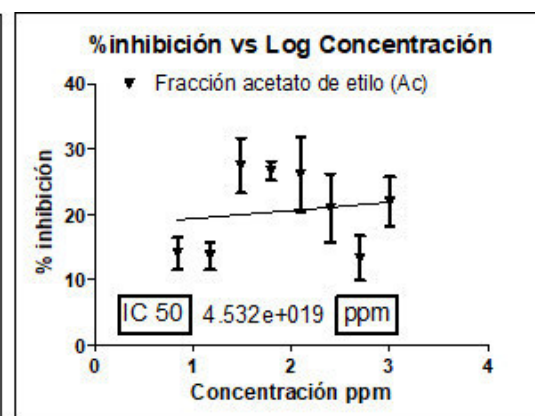
**Figura 160.** IC<sub>50</sub> de Cl-Dh a 48 horas



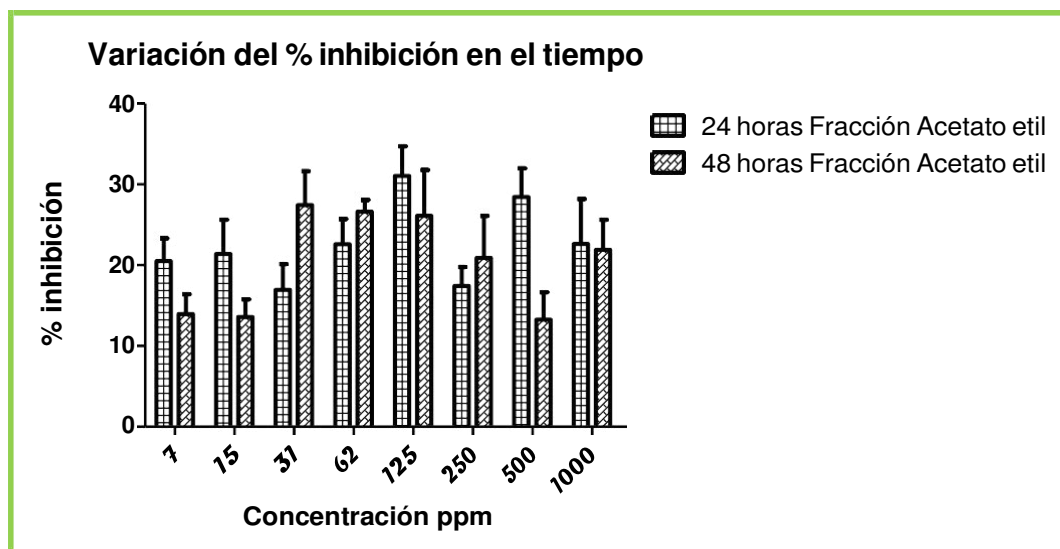
**Figura 161.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Cl-Dh



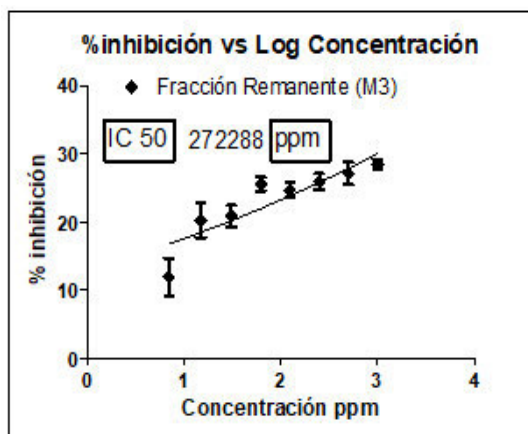
**Figura 162.** IC<sub>50</sub> de Ac-Dh a 24 horas



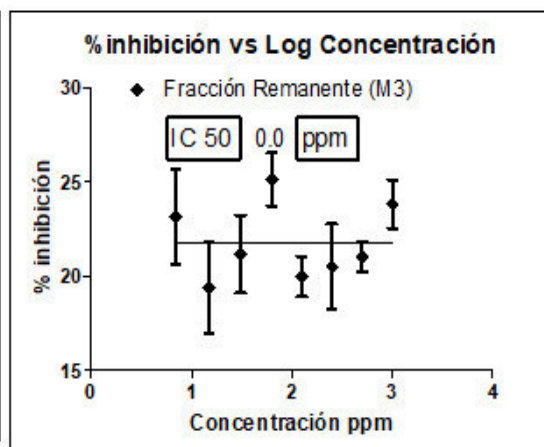
**Figura 163.** IC<sub>50</sub> de Ac-Dh a 48 horas



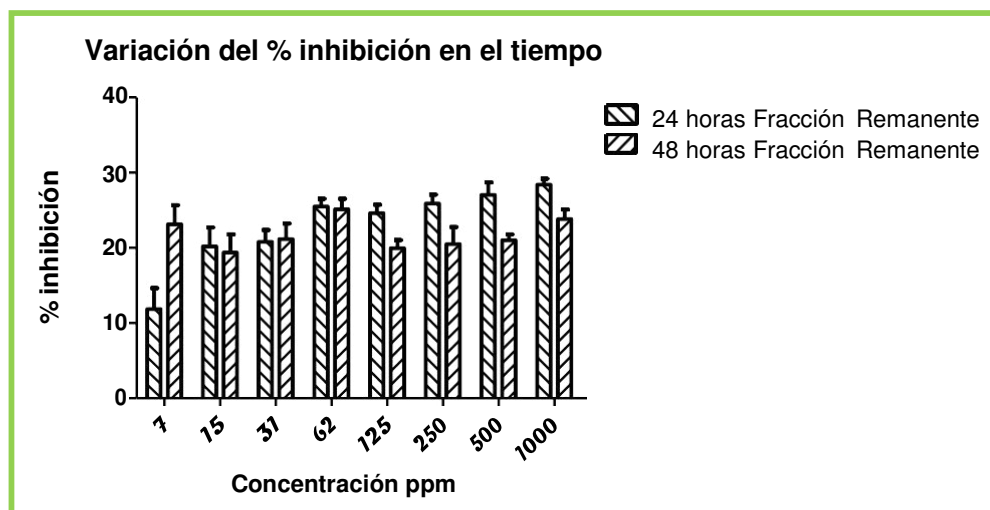
**Figura 164.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-Dh

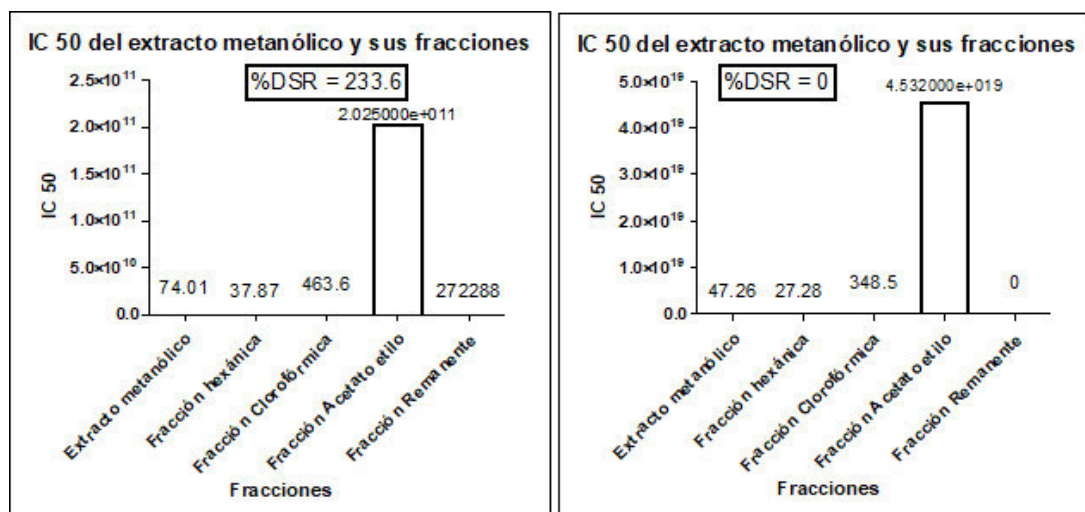
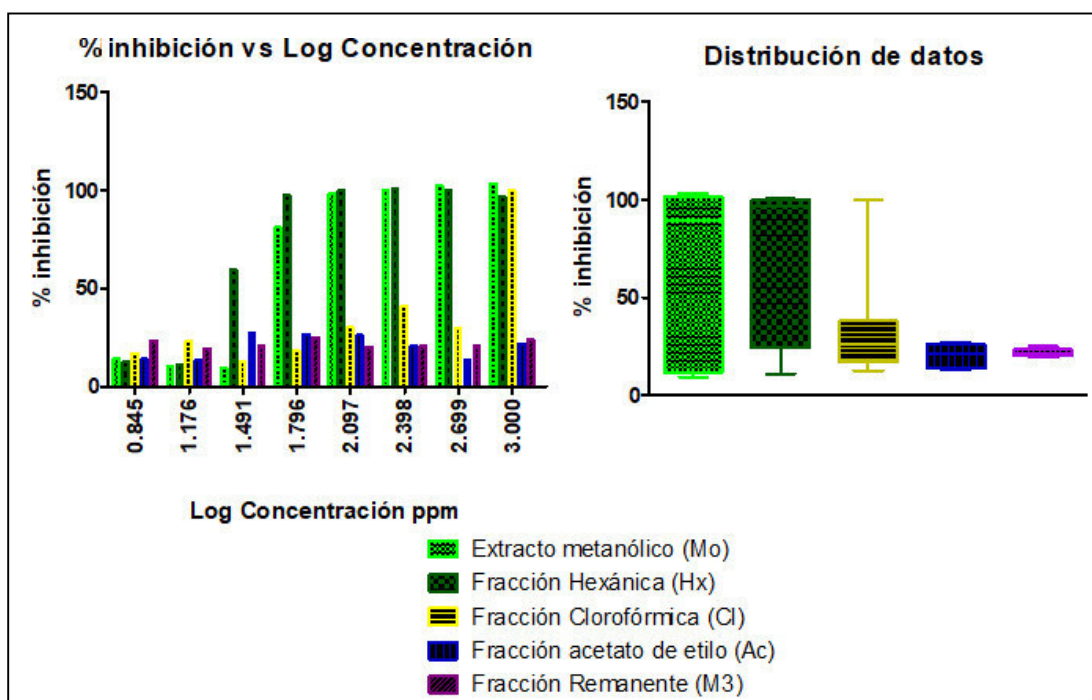


**Figura 165.** IC<sub>50</sub> de M3-Dh a 24 horas



**Figura 166.** IC<sub>50</sub> de M3-Dh a 48 horas



**Figura 167.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Dh**Figura 168.** Variación de IC<sub>50</sub> Dh a 24 horas **Figura 169.** Variación de IC<sub>50</sub> Dh a 28 horas**Figura 170.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Dh



**Tabla 41.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de corno de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 24 horas

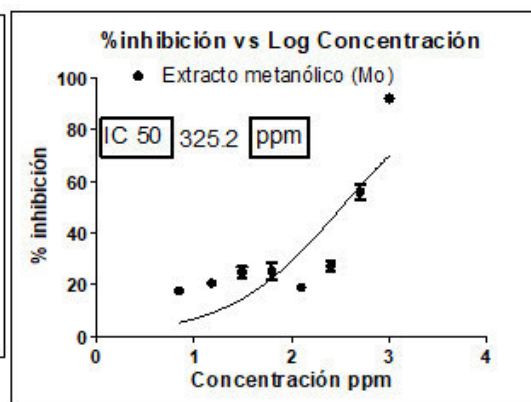
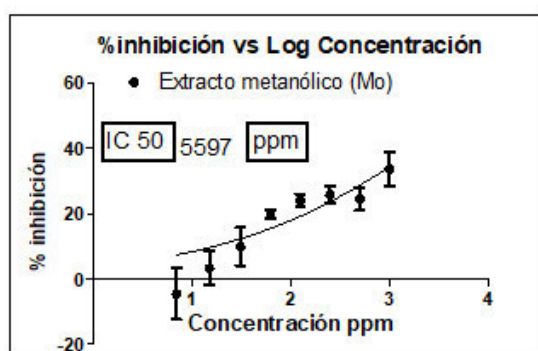
concentración ppm	Extracto metanólico de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	22,000	-11,033	-14,940	-32,625	0,354	8,902
15	10,688	11,700	0,089	-20,919	8,104	10,075
31	33,112	5,705	7,457	-10,405	9,650	13,630
62	23,677	15,941	21,904	15,756	22,800	19,587
125	26,532	23,002	23,436	15,305	27,411	28,103
250	35,925	23,047	23,743	19,261	22,590	29,693
500	40,215	17,837	21,207	21,511	17,547	28,696
1000	51,397	38,920	34,819	14,015	29,782	32,478
concentración ppm	Fracción hexánica de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	28,446	29,711	17,939	2,652	17,592	8,515
15	13,772	5,092	4,997	14,113	66,822	5,397
31	42,180	5,065	6,001	-6,262	2,789	-0,117
62	19,613	-5,243	-1,625	-2,199	58,670	13,615
125	-0,520	-18,347	-17,410	-21,215	-13,738	-11,162
250	2,276	-2,920	2,134	-3,760	7,249	20,920
500	92,488	99,543	100,640	98,568	97,420	97,665
1000	98,504	92,473	91,555	95,351	96,176	98,763
concentración ppm	Fracción clorofórmica de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	26,936	11,470	4,003	4,052	0,736	18,736
15	19,201	9,104	-0,610	-6,534	-1,099	15,294
31	26,104	8,901	8,680	6,892	6,193	25,146
62	47,983	42,438	41,978	57,000	59,362	48,599
125	55,590	50,322	55,244	56,084	55,009	59,002
250	31,034	23,178	33,030	30,036	33,682	33,803
500	99,273	99,967	100,414	97,444	102,116	100,334
1000	103,656	110,417	103,765	103,718	100,603	110,482
concentración ppm	Fracción acetato etilo de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	30,627	30,441	28,818	0,758	16,043	19,254
15	18,256	3,930	13,113	-7,123	-7,751	1,236
31	7,687	7,226	6,700	1,551	4,050	-1,279
62	24,437	17,495	13,789	-1,940	20,346	-3,165
125	24,301	16,488	14,954	13,688	11,688	4,588
250	25,837	23,236	21,216	14,375	15,870	5,420
500	26,715	24,329	20,185	16,794	9,172	17,034
1000	41,868	33,298	32,481	23,480	19,663	12,869
concentración ppm	Fracción remanente de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 24 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	30,242	20,688	17,144	13,045	6,552	-9,959

15	32,143	21,726	-5,931	-6,714	-0,777	-1,768
31	26,147	12,358	21,636	18,047	5,245	-12,712
62	19,914	16,343	17,213	7,569	9,122	9,242
125	39,657	33,123	23,006	27,716	18,347	39,162
250	47,305	38,262	21,971	13,335	15,822	4,658
500	43,163	42,650	26,604	24,212	18,063	15,349
1000	43,063	40,290	35,956	20,223	10,303	16,242

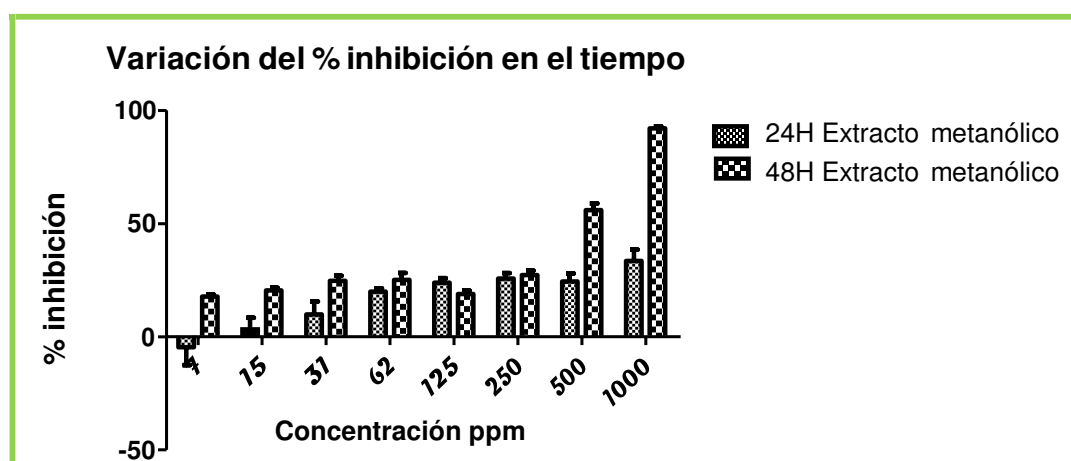
**Tabla 42.** Porcentaje de citotoxicidad del extracto metanólico y fracciones de corno de *Dracontium spruceanum* evaluados a las 48 horas

concentración ppm	Extracto metanólico de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	19,640	17,224	15,100	18,972	15,312	20,020
15	21,772	22,774	14,957	21,594	20,825	21,465
31	25,888	32,581	22,437	15,912	24,651	26,545
62	36,633	30,425	19,842	18,283	18,676	27,442
125	15,517	19,317	24,566	19,151	20,700	14,047
250	26,906	22,116	22,0 <sub>50</sub>	27,113	33,799	31,557
500	53,564	43,418	63,345	55,066	57,515	62,775
1000	93,394	90,054	90,632	90,368	94,839	93,375
concentración ppm	Fracción hexánica de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	12,842	15,737	11,314	6,685	18,280	9,716
15	17,985	11,353	11,735	15,378	23,418	28,793
31	15,717	14,644	10,421	25,890	16,894	30,8 <sub>50</sub>
62	9,899	13,165	31,227	27,967	37,854	40,717
125	-10,960	-13,434	-15,409	-17,429	-17,831	-7,604
250	9,458	-8,124	-13,614	-41,254	-4,364	-44,062
500	99,381	100,318	100,236	99,386	100,247	99,608
1000	100,306	98,131	97,759	97,857	97,148	98,040
concentración ppm	Fracción clorofórmica de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	16,190	13,103	7,276	11,611	8,678	19,788
15	19,534	19,398	21,345	14,725	19,122	19,690
31	67,208	60,965	57,885	59,938	61,700	64,712
62	93,590	94,007	92,048	92,823	93,802	95,034
125	97,595	95,686	97,524	95,800	95,283	94,626
250	99,484	99,014	98,653	98,016	98,481	97,742
500	101,297	101,283	101,273	100,955	100,702	100,705
1000	103,391	111,597	104,811	111,425	113,416	109,417
concentración ppm	Fracción acetato etilo de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
7	-2,687	-1,975	0,254	2,302	-0,088	-3,184
15	-4,683	-5,290	0,283	-0,353	-5,987	7,957

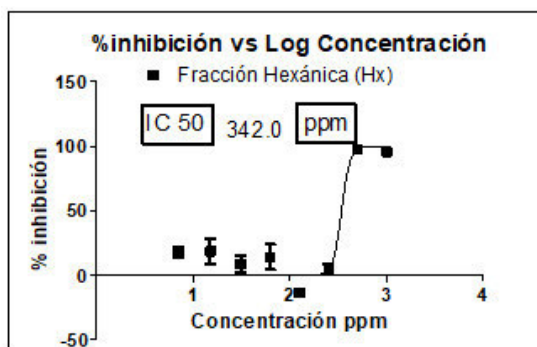
<b>31</b>	-3,019	-2,045	-9,058	-5,725	11,218	-1,106
<b>62</b>	1,921	7,796	2,409	10,530	7,078	12,511
<b>125</b>	12,346	14,192	10,713	11,002	4,426	12,869
<b>250</b>	14,227	11,360	21,487	10,610	24,685	16,904
<b>500</b>	15,171	10,932	24,462	11,270	10,336	14,066
<b>1000</b>	10,543	19,724	25,671	20,140	17,044	16,346
<b>concentración ppm</b>	Fracción remanente de corno de <i>Dracontium spruceanum</i> a 48 horas					
	%dif1	%dif2	%dif3	%dif4	%dif5	%dif6
<b>7</b>	14,030	-2,493	-9,121	-8,569	-16,771	2,480
<b>15</b>	30,726	12,928	1,776	4,974	-3,831	4,403
<b>31</b>	34,048	14,675	12,568	8,537	-2,502	13,213
<b>62</b>	40,557	20,368	7,321	6,410	0,147	2,678
<b>125</b>	31,783	17,412	5,265	3,122	-2,548	0,424
<b>250</b>	32,387	14,370	12,157	2,268	-9,825	8,882
<b>500</b>	27,283	12,858	9,552	-1,452	-5,561	-2,863
<b>1000</b>	37,404	19,494	14,052	16,557	5,375	2,642



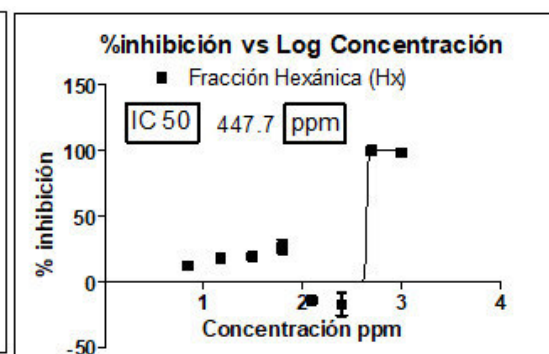
**Figura 171.** IC<sub>50</sub> de Mo-Dc a 24 horas **Figura 172.** IC<sub>50</sub> de Mo-Dc a 48 horas



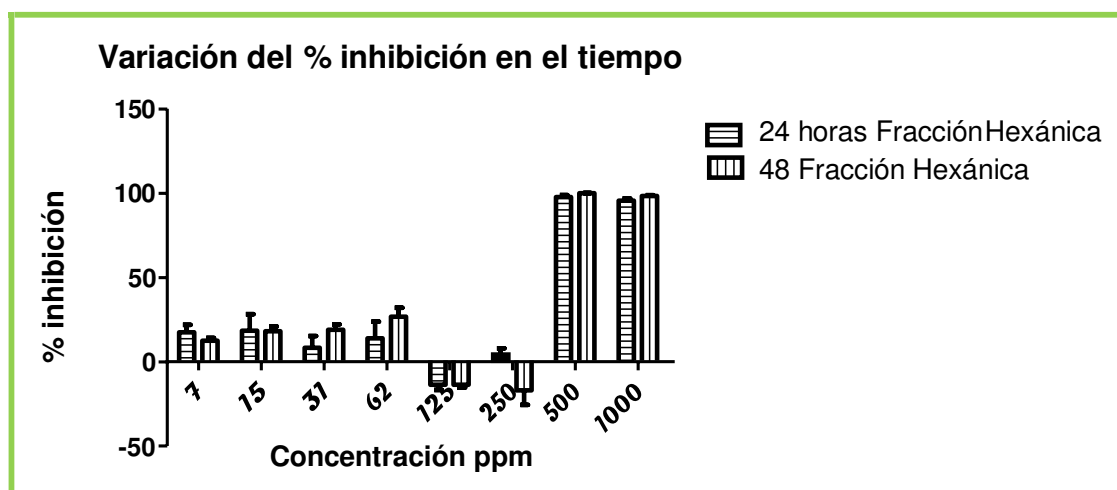
**Figura 173.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Mo-Dc



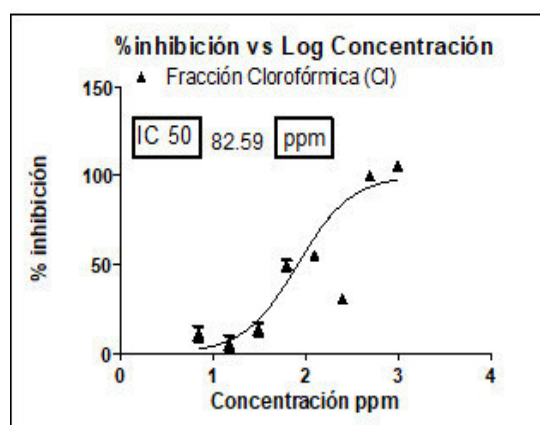
**Figura 174.** IC<sub>50</sub> de Hx-Dc a 24 horas



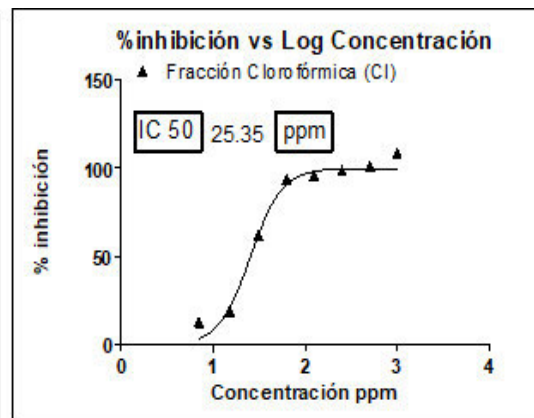
**Figura 175.** IC<sub>50</sub> de Hx-Dc a 48 horas



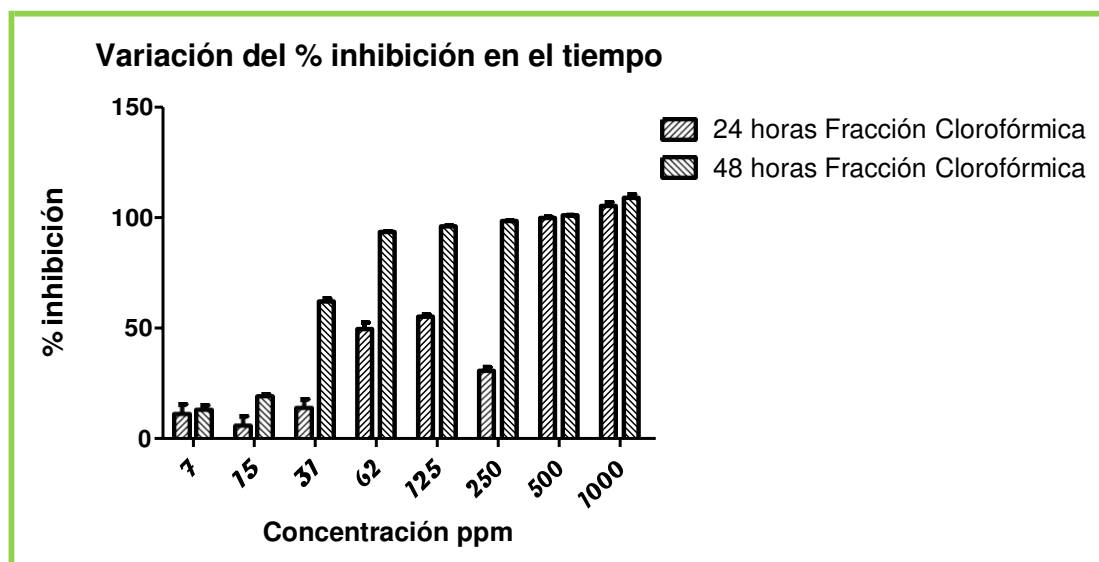
**Figura 176.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Hx-Dc



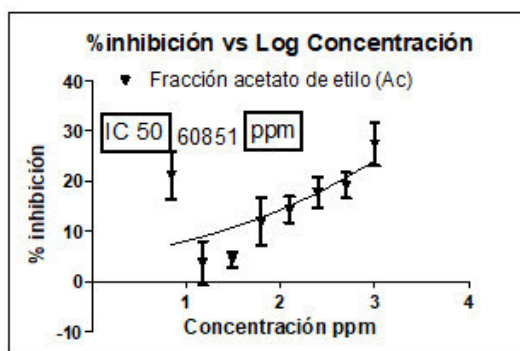
**Figura 177.** IC<sub>50</sub> de Cl-Dc a 24 horas



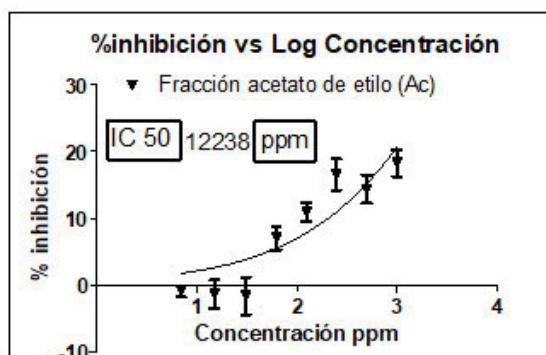
**Figura 178.** IC<sub>50</sub> de Cl-Dc a 48 horas



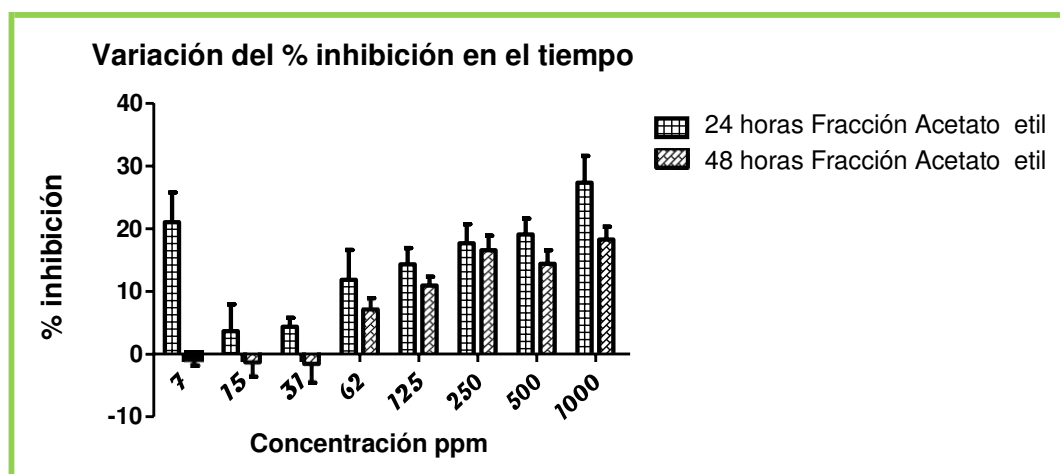
**Figura 179.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en CI-Dc



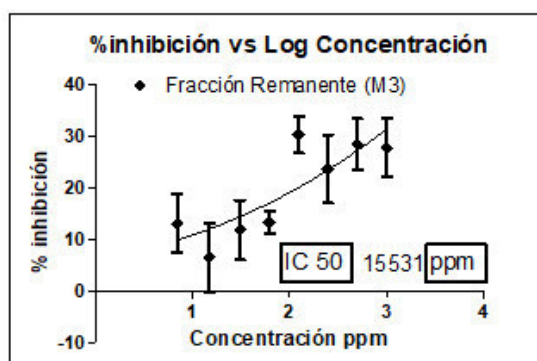
**Figura 180.** IC<sub>50</sub> de Ac-Dc a 24 horas



**Figura 181.** IC<sub>50</sub> de Ac-Dc a 48 horas

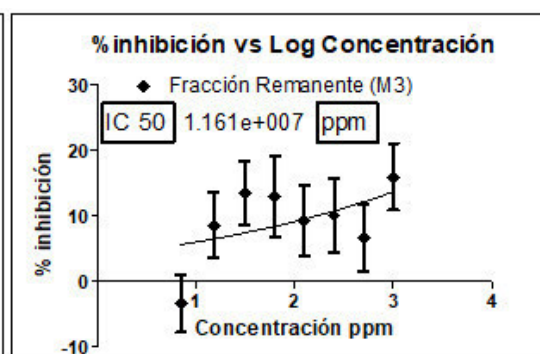


**Figura 182.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en Ac-DC

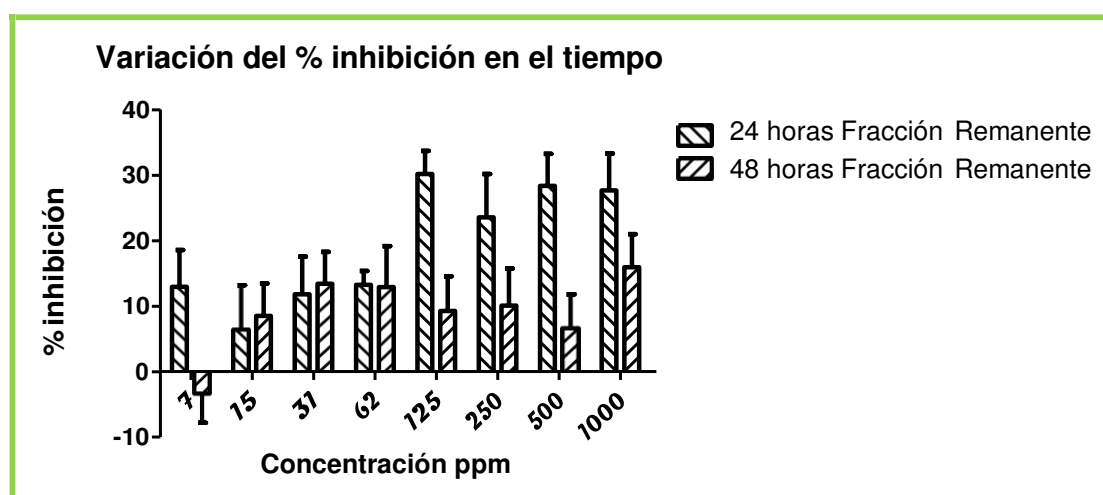


**Figura 183.** IC<sub>50</sub> de M3-Dc a 24

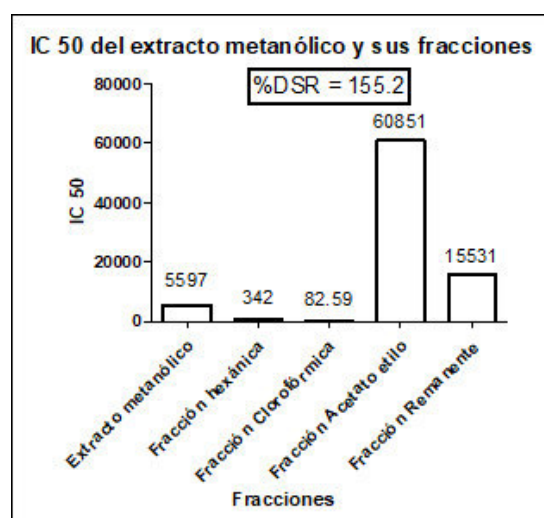
horas



**Figura 184.** IC<sub>50</sub> de M3-Dc a 48 horas

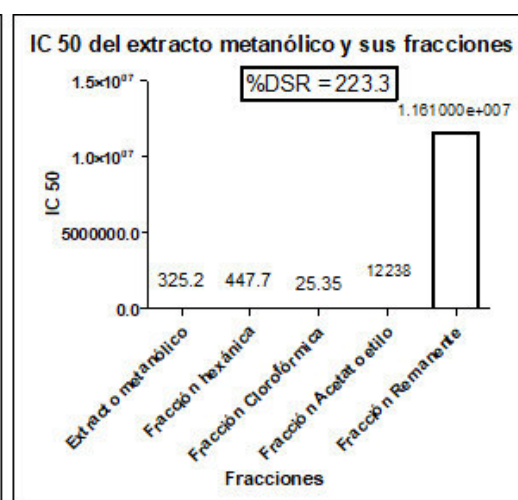


**Figura 185.** Variación de la citotoxicidad de 24 a 48 horas en M3-Dc

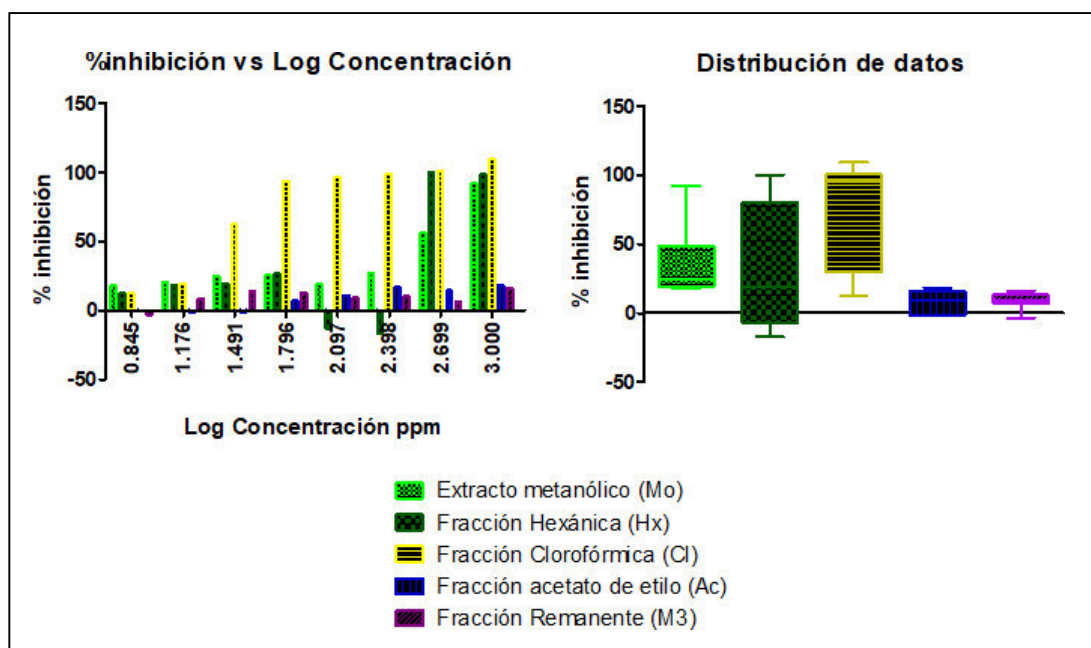


**Figura 186.** Variación de IC<sub>50</sub> Dc a 24

horas.



**Figura 187.** Variación de IC<sub>50</sub> Dc a 48 horas



**Figura 188.** Variación a diferentes concentraciones y diagrama de cajas de Dc

Lo que puede destacarse de todos los gráficos anteriormente presentados es la variación entre un resultado a 24 y 48 horas, se puede evidenciar en algunos casos que el efecto se incrementa y en otros que la aumentar la concentración el efecto disminuye, estos datos son útiles pues si a una cierta concentración el extracto resulta ser efectivo pero es tóxico para las células normales, resultará eficiente conocer si a las horas tendrá la misma potencia a una concentración menor que no resulte tóxica para células normales. (T. L. Riss & Moravec, 2004)

## 4.2 Pruebas de hipótesis

Parte del objetivo principal del presente trabajo es determinar si existe una relación en los datos obtenidos en la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa, las correlaciones significativas analizadas con el test de Pearson o Spearman, dependiendo la normalidad de los datos, se procesaron posteriormente con una prueba de regresión lineal para determinar una posible ecuación que permita proyectar respuestas citotóxicas en función de la actividad antioxidante o antiinflamatoria para una muestra en un determinado rango de concentraciones. Los datos trabajados fueron tres

concentraciones, las cuales coincidían y eran significativas en cuanto a respuestas obtenidas por las tres evaluaciones (1000, 500 y 250 ppm)

**Tabla 43.** Datos de *Buddleja incana* usados para hallar correlación

<b>Buddleja incana</b>				
<b>Extracto metanólico</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	28,660	-349,683	99,064
	1000	38,629	-390,563	100,088
	1000	41,745	-322,430	98,575
	500	12,150	-390,120	98,832
	500	11,215	-360,415	99,194
	500	23,988	-434,676	96,052
	250	11,215	-315,225	80,171
	250	10,903	-382,197	73,144
	250	14,642	-342,014	70,871
<b>Fracción hexánica</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	5,296	118,127	99,752
	1000	5,919	119,775	99,947
	1000	6,854	117,028	99,808
	500	-5,607	135,556	98,977
	500	2,181	133,401	99,823
	500	-5,919	138,789	99,433
	250	0,935	111,134	99,991
	250	4,361	112,930	99,916
	250	2,492	111,852	99,191
<b>Fracción clorofórmica</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	97,784	-339,225	61,370
	1000	97,868	-379,155	61,644
	1000	98,409	-312,606	56,712
	500	99,692	-272,993	38,356
	500	99,357	-250,387	42,466
	500	100,127	-306,901	46,027
	250	100,546	-338,803	24,384
	250	100,432	-409,577	20,548
	250	99,593	-367,113	19,726
<b>Fracción acetato de etilo</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	95,923	-353,169	98,082
	1000	99,917	-394,366	98,356
	1000	98,826	-325,704	98,082
	500	96,953	-44,317	63,014
	500	97,331	-35,570	67,671
	500	97,769	-57,437	84,110
	250	98,560	92,141	39,452



<b>Fracción remanente</b>	250	98,749	90,873	42,466
	250	98,800	91,634	36,164
	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	99,601	-335,739	58,911
	1000	101,254	-375,352	55,693
	1000	99,347	-309,331	59,406
	500	49,985	-381,056	36,386
	500	45,542	-351,901	36,634
	500	51,648	-424,789	32,921
	250	22,465	-163,282	26,485
	250	16,125	-205,746	27,970
	250	34,739	-180,268	24,010

**Tabla 44.** Datos de *Piper aduncum* usados para hallar correlación

<b><i>Piper aduncum</i></b>				
<b>Extracto metanólico</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	100,619	-31,577	53,465
	1000	100,705	-13,303	69,307
	1000	101,198	-20,613	64,851
	500	100,155	141,261	31,436
	500	100,155	143,923	62,624
	500	100,155	147,915	51,733
	250	99,630	130,423	24,752
	250	98,893	127,887	45,050
	250	98,597	126,197	39,851
<b>Fracción hexánica</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	100,261	-254,423	24,983
	1000	100,669	-205,197	24,712
	1000	100,018	-224,887	25,525
	500	99,440	160,254	12,525
	500	99,347	164,141	15,775
	500	99,644	169,972	17,129
	250	99,911	157,042	11,713
	250	99,792	152,289	10,088
	250	99,303	149,120	10,630
<b>Fracción clorofórmica</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	99,192	117,493	64,794
	1000	99,213	115,063	66,960
	1000	98,375	116,035	56,127
	500	99,027	111,789	37,712
	500	98,860	112,549	37,982
	500	98,844	113,690	38,795
	250	98,020	94,676	22,004
	250	97,047	95,120	24,171
	250	98,138	95,415	21,192
<b>Fracción acetato de etilo</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	99,914	101,521	79,246
	1000	100,295	101,310	81,223
	1000	100,210	101,394	86,164

<b>Fracción remanente</b>	500	0,732	77,732	47,375
	500	17,941	76,296	52,069
	500	10,414	74,141	53,305
	250	14,267	87,831	28,351
	250	25,685	88,845	33,292
	250	21,678	89,521	33,045
	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	28,514	100,761	24,151
	1000	18,248	100,655	26,127
	1000	19,708	100,697	23,657
	500	21,060	94,761	15,998
	500	19,450	94,423	19,209
	500	15,463	93,915	14,515
	250	17,294	88,592	14,268
	250	9,215	89,542	13,033
	250	23,629	90,176	10,809

**Tabla 45.** Datos de Hojas de *Dracontium spruceanum* usados para hallar correlación

<b>Hojas de <i>Dracontium spruceanum</i></b>				
<b>Extracto metanólico</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	99,894	-263,232	14,191
	1000	105,213	-296,254	10,891
	1000	104,834	-241,218	14,851
	500	102,057	-281,359	2,640
	500	101,533	-316,028	2,640
	500	103,228	-258,246	0,330
	250	100,119	61,972	-4,620
	250	100,310	65,141	-1,320
	250	99,234	67,254	1,320
<b>Fracción hexánica</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	90,393	-233,951	1,650
	1000	94,146	-264,310	0,990
	1000	104,804	-213,711	1,980
	500	100,429	-288,331	-3,300
	500	100,000	-323,634	-3,300
	500	100,176	-264,796	14,521
	250	100,830	-301,577	-4,950
	250	100,464	-268,113	-2,310
	250	100,377	-245,803	-0,990
<b>Fracción clorofórmica</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	100,073	89,542	6,548
	1000	99,655	88,592	9,226
	1000	99,804	90,176	14,881
	500	22,529	127,190	13,393
	500	31,919	129,662	12,500

<b>Fracción acetato de etilo</b>	500	33,852	125,542	10,119
	250	40,069	120,535	8,631
	250	47,090	118,824	6,845
	250	35,113	117,683	10,119
	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	24,620	90,239	26,190
	1000	18,308	89,352	29,762
	1000	22,766	90,831	33,929
	500	21,012	97,908	23,810
	500	7,531	97,718	23,810
<b>Fracción remanente</b>	500	11,193	98,035	25,298
	250	30,972	89,352	17,560
	250	10,250	90,239	15,179
	250	21,461	90,831	19,643
	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	27,110	111,155	17,310
	1000	21,599	112,169	15,594
	1000	22,755	110,479	17,310
	500	22,045	100,697	-5,579
	500	18,777	100,761	7,868
	500	22,216	100,655	9,585
	250	25,189	101,521	-2,432
	250	17,369	101,394	2,146
	250	18,980	101,310	-0,715

**Tabla 46.** Datos de Corno de *Dracontium spruceanum* usados para hallar correlación.

<b>Corno de <i>Dracontium spruceanum</i></b>				
<b>Extracto metanólico</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	91,724	140,437	7,296
	1000	90,500	144,113	7,296
	1000	94,107	137,986	46,209
	500	48,491	132,324	0,715
	500	59,205	133,275	7,296
	500	60,145	129,472	4,435
	250	24,511	128,162	0,143
	250	24,582	131,796	1,860
	250	32,678	130,887	10,730
<b>Fracción hexánica</b>	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	99,218	-288,331	3,739
	1000	97,808	-323,634	4,011
	1000	97,594	-264,796	8,906

<b>Fracción clorofórmica</b>	500	99,849	-257,000	1,835
	500	99,811	-267,500	0,748
	500	99,927	-225,500	-0,612
	250	0,667	-180,965	3,739
	250	-27,434	-217,218	1,564
	250	-24,213	-208,155	0,476
	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	107,494	176,690	26,852
	1000	108,118	183,662	27,124
	1000	111,416	172,042	42,352
<b>Fracción acetato de etilo</b>	500	101,290	149,563	10,809
	500	101,114	151,021	14,616
	500	100,704	145,190	14,616
	250	99,249	134,056	6,730
	250	98,334	138,451	8,362
	250	98,111	137,352	61,931
	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	15,134	90,937	22,905
	1000	22,906	90,113	24,581
	1000	16,695	91,486	20,670
<b>Fracción remanente</b>	500	13,051	89,944	17,877
	500	17,866	89,648	16,760
	500	12,201	90,831	14,804
	250	12,794	97,380	16,480
	250	16,049	97,042	15,363
	250	20,795	97,127	12,849
	Concentración ppm	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
	1000	28,449	83,268	9,497
	1000	15,304	81,746	10,335
	1000	4,008	84,282	26,257
	500	20,070	87,789	6,983
	500	4,050	87,430	5,028
	500	-4,212	88,866	22,905
	250	23,378	88,866	10,056
	250	7,212	87,430	9,218
	250	-0,472	87,789	9,497

#### 4.2.1 Análisis del supuesto de normalidad para los datos

Los datos son procesados con la prueba de Shapiro Wilk

**Tabla 47.** Test de normalidad para datos de *Buddleja incana*

		Shapiro-Wilk normality test	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
<b><i>Buddleja incana</i></b>	<b>Extracto metanólico</b>	W	0,8206	0,9587	0,7333
		P value	0,035	0,7844	0,0035
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>No</b>	<b>Yes</b>	<b>No</b>
	<b>Fracción nhexánica</b>	W	0,8582	0,8478	0,8487
		P value	0,0917	0,0705	0,072
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
	<b>Fracción cloroformica</b>	W	0,8945	0,982	0,8994
		P value	0,2218	0,9737	0,2488
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
	<b>Fracción acetato etilo</b>	W	0,8616	0,8279	0,9545
		P value	0,0998	0,0423	0,7398
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	<b>Fracción remanente</b>	W	0,8449	0,8941	0,8582
		P value	0,0654	0,2197	0,0917
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>

Los datos que arrojaron “yes” para prueba de normalidad se consideran una población de distribución normal; cuando en la prueba de correlación se analizaron dos poblaciones normales, se realizó la prueba de Pearson; en el caso de dos poblaciones no normales, se utilizó el equivalente no paramétrico de Spearman, y cuando se analizó una población de distribución normal con una no normal, se consideraron ambas no paramétricas y se aplicó Spearman.

**Tabla 48.** test de normalidad para datos de *Piper aduncum*

		Shapiro-Wilk normality test	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
<i>Piper aduncum</i>	Extracto metanólico	W	0,9372	0,714	0,9593
		P value	0,5526	0,0021	0,7913
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	Fracción nexanica	W	0,944	0,6702	0,8412
		P value	0,6248	0,0006	0,0596
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	Fracción ciorotormica	W	0,882	0,7624	0,8826
		P value	0,165	0,0075	0,167
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	Fracción acetato etilo	W	0,7486	0,8705	0,8844
		P value	0,0052	0,1244	0,1746
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>No</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
	Fracción remanente	W	0,9715	0,867	0,9142
		P value	0,9069	0,1141	0,3466
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>

**Tabla 49.** Test de normalidad para datos de hojas de *Dracontium*

		Shapiro-Wilk normality test	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
Hojas de <i>Dracontium spruceanum</i>	Extracto metanólico	W	0,9103	0,7223	0,89
		P value	0,3183	0,0026	0,1994
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	Fracción nexanica	W	0,8101	0,9842	0,7781
		P value	0,0266	0,9824	0,0115
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>No</b>	<b>Yes</b>	<b>No</b>
	Fracción ciorotormica	W	0,7678	0,7923	0,9497
		P value	0,0087	0,0167	0,6867
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>No</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	Fracción acetato etilo	W	0,9474	0,7263	0,9766
		P value	0,6613	0,0029	0,9444
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	Fracción remanente	W	0,9577	0,6964	0,9093
		P value	0,7742	0,0013	0,3109
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>

**Tabla 50.** Test de normalidad para datos de Cormo de *Dracontium*

Hojas de <i>Dracontium spruceanum</i>	Extracto metanólico	Shapiro-Wilk normality test	antioxidante	antiinflamatorio	citotóxico
		W	0,8764	0,9077	0,6238
		P value	0,1437	0,3003	0,0002
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>No</b>
	Fracción hexánica	W	0,6651	0,9791	0,8882
		P value	0,0006	0,9592	0,1913
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>No</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
	Fracción clorofórmica	W	0,8546	0,8815	0,8548
		P value	0,0838	0,1628	0,0842
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>
	Fracción acetato etílico	W	0,9304	0,7515	0,9412
		P value	0,4852	0,0056	0,5941
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>Yes</b>
	Fracción remanente	W	0,9433	0,8387	0,7614
		P value	0,6171	0,0559	0,0074
		Passed normality test (alpha=0.05)?	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>No</b>

#### 4.2.2 Análisis de correlación

**Tabla 51.** Análisis de correlación de *Buddleja incana*

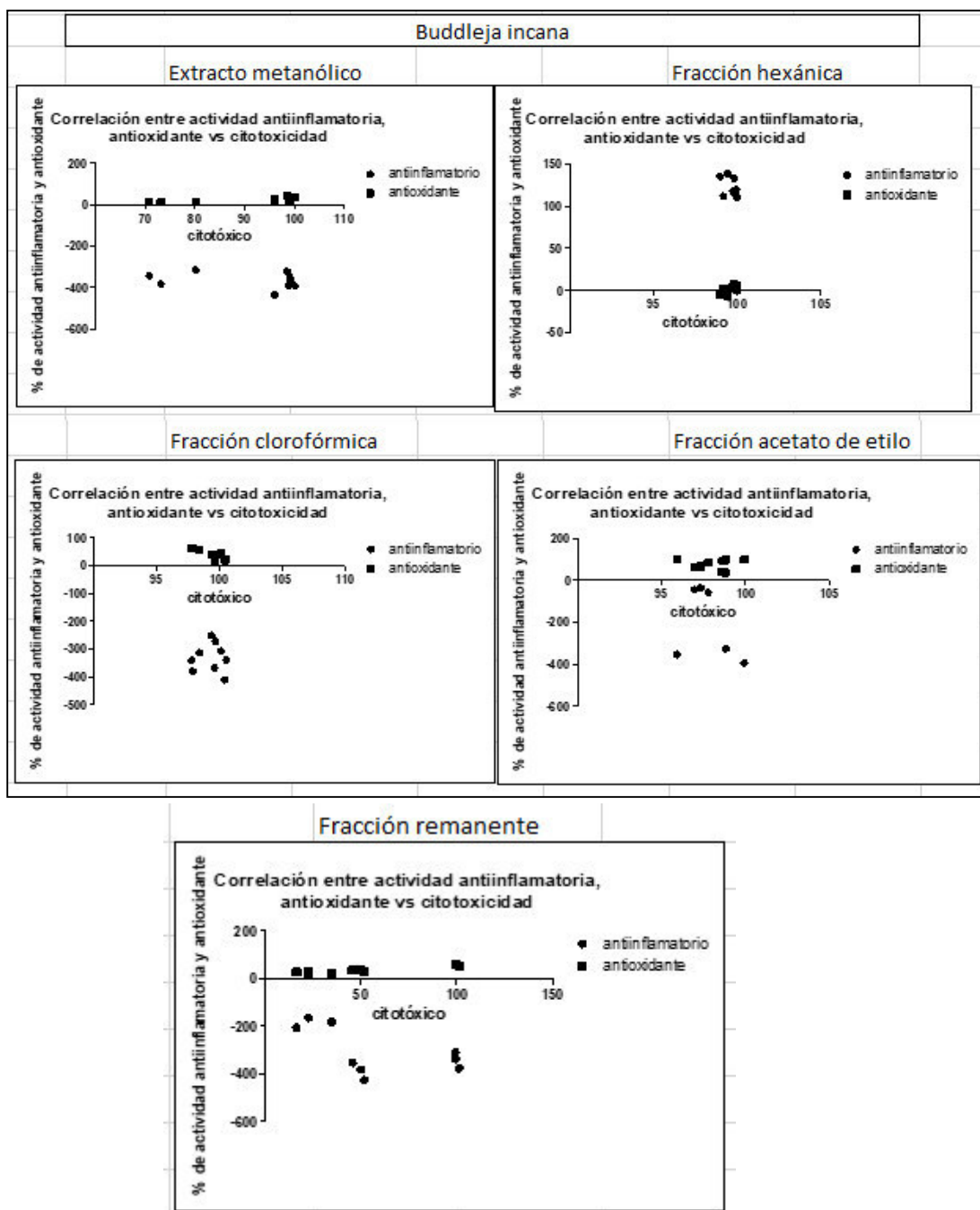
Buddleja incana		
Extracto metanólico	Antiinflamatorio	Antioxidante
Number of XY Pairs	9	9
Spearman r	-0,35	0,3933
P value (two-tailed)	0,3586	0,2912
P value summary	ns	ns
Exact or approximate P value?	Exact	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0,05)	No	No
Fracción hexánica	Antiinflamatorio	Antioxidante
Number of XY Pairs	9	9
Spearman r	-0,35	0,3933
P value (two-tailed)	0,3586	0,2912
P value summary	ns	ns

Exact or approximate P value?	Exact	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0,05)	No	No
R squared	0,2003	0,452
Fracción clorofórmica	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
Number of XY Pairs	9	9
Pearson r	0,007039	<b>-0,8539</b>
95% confidence interval	-0,6603 to 0,6681	-0,9687 to -0,4382
P value (two-tailed)	0,9857	0,0034
P value summary	ns	**
Is the correlation significant? (alpha=0,05)	No	<b>Yes</b>
R squared	0,00004955	<b>0,7291</b>
Fracción acetato de etilo	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
Number of XY Pairs	9	9
Pearson r	0,03667	-0,157
95% confidence interval	-0,6432 to 0,6842	-0,7437 to 0,5663
P value (two-tailed)	0,9254	0,6867
P value summary	ns	ns
Is the correlation significant? (alpha=0,05)	No	No
R squared	0,001344	0,02464
Fracción remanente	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
Number of XY Pairs	9	9
Pearson r	-0,5643	<b>0,9672</b>
95% confidence interval	-0,8936 to 0,1598	0,8471 to 0,9933
P value (two-tailed)	0,1135	< 0,0001
P value summary	ns	***
Is the correlation significant? (alpha=0,05)	No	<b>Yes</b>
R squared	0,3184	<b>0,9354</b>

Se escogen las correlaciones significativas, y cuyo r de Pearson o spearman sea mayor o igual a 0,9 solo cumple estos requisitos la correlación entre la actividad antioxidante y la actividad citotóxica en la fracción remanente de *Buddleja incana*, en el caso de la fracción clorofórmica se aprecia un signo negativo para la correlación entre actividad antioxidante y citotóxica, lo cual



indica relación inversa, pero el R de Pearson es menor a 0,9 y además el  $R^2$  es 0,7 también es muy bajo.



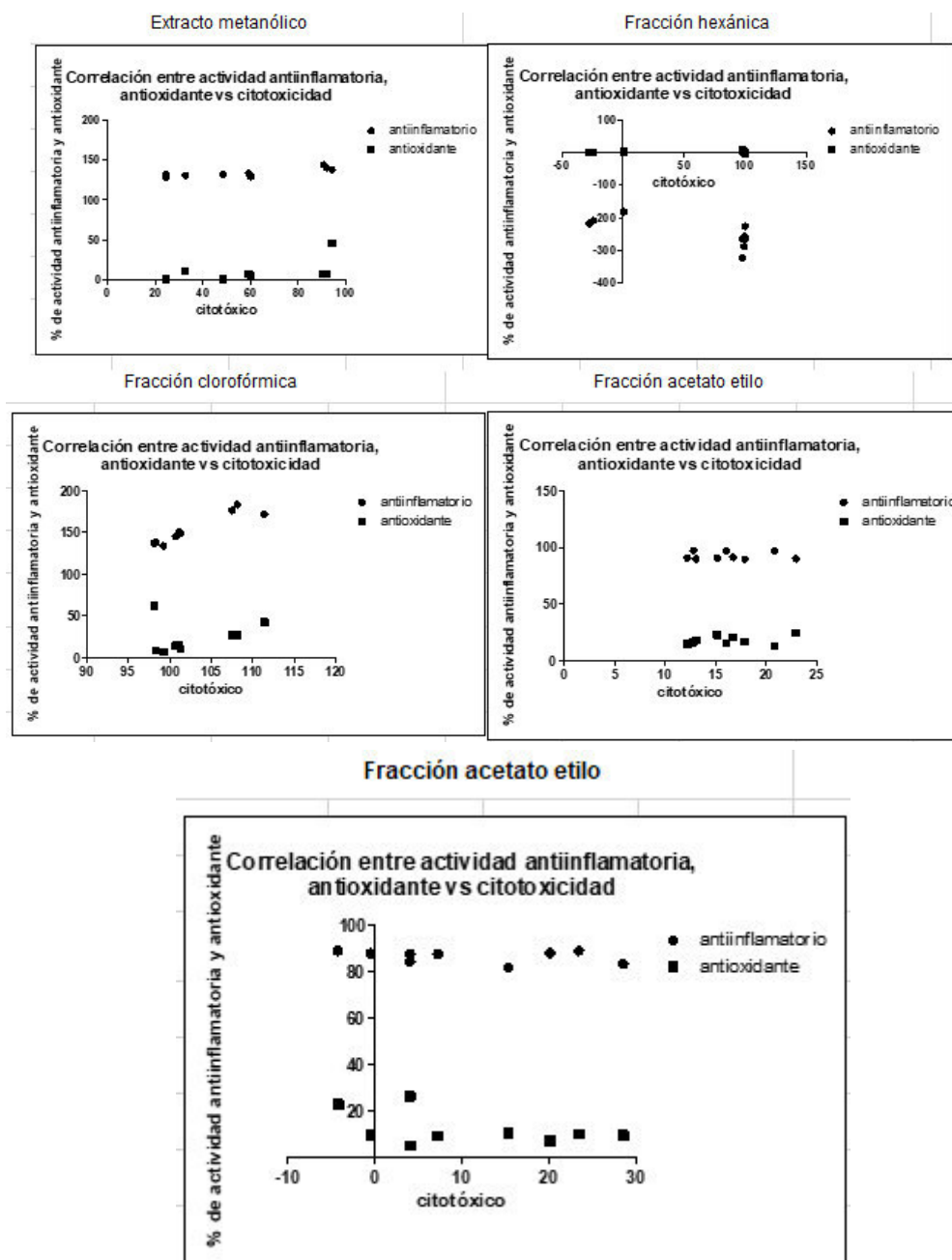
**Figura 189.** Gráficos de correlación de la *Buddleja* y sus fracciones

**Tabla 52.** Análisis de correlación del corno de *Dracontium* y sus fracciones

<b>Corno de <i>Dracontium spruceanum</i></b>		
Extracto metanólico	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
<b>Number of XY Pairs</b>	9	9
<b>Spearman r</b>	0,75	0,6611
<b>P value (two-tailed)</b>	0,0255	0,0589
<b>P value summary</b>	*	ns
<b>Exact or approximate P value?</b>	Exact	Exact
<b>Is the correlation significant? (alpha=0,05)</b>	Yes	No
Fracción hexánica	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
<b>Number of XY Pairs</b>	9	9
<b>Pearson r</b>	<b>0,929</b>	0,2769
<b>95% confidence interval</b>	0,6914 to 0,9853	-0,4747 to 0,7949
<b>P value (two-tailed)</b>	0,0003	0,4708
<b>P value summary</b>	***	ns
<b>Is the correlation significant? (alpha=0,05)</b>	<b>Yes</b>	No
<b>R squared</b>	<b>0,863</b>	0,07665
Fracción clorofórmica	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
<b>Number of XY Pairs</b>	9	9
<b>Pearson r</b>	-0,01302	0,2897
<b>95% confidence interval</b>	-0,6714 to 0,6569	-0,4638 to 0,8000
<b>P value (two-tailed)</b>	0,9735	0,4495
<b>P value summary</b>	ns	ns
<b>Is the correlation significant? (alpha=0,05)</b>	No	No
<b>R squared</b>	0,0001695	0,08394
Fracción acetato etilo	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
<b>Number of XY Pairs</b>	9	9
<b>Pearson r</b>	0,03667	-0,157
<b>95% confidence interval</b>	-0,6432 to 0,6842	-0,7437 to 0,5663

<b>P value (two-tailed)</b>	0,9254	0,6867
<b>P value summary</b>	ns	ns
<b>Is the correlation significant? (alpha=0,05)</b>	No	No
<b>R squared</b>	0,001344	0,02464
Fracción remanente	<b>Antiinflamatorio</b>	<b>Antioxidante</b>
<b>Number of XY Pairs</b>	9	9
<b>Spearman r</b>	-0,2785	-0,2929
<b>P value (two-tailed)</b>	0,463	0,4366
<b>P value summary</b>	ns	ns
<b>Exact or approximate P value?</b>	Exact	Exact
<b>Is the correlation significant? (alpha=0,05)</b>	No	No

La correlación entre la actividad antiinflamatoria y citotóxica en la fracción hexánica del corno de *Dracontium spruceanum* cumple con un R de Pearson mayor a 0,9 y un  $R^2$  cercano a 0,9; por tanto, también se escoge para hacer el estudio de regresión lineal.



**Figura 190.** Gráficas de correlación del cormo de *Dracontium* y sus fracciones

### 4.2.3 Regresión lineal

En el análisis de regresión procesado con el programa estadístico GraphPad Prism 5. Para el caso de la fracción remanente que pasó la prueba de correlación se obtuvo una relación entre la actividad antioxidante por ABTS•+ siendo este el término independiente y la actividad citotóxica como el termino dependiente, determinada por la siguiente ecuación lineal

$$Y = 2.283 x - 33.07 \text{ con un } R^2 \text{ de } 0.9354.$$

Para el caso de la fracción hexánica del corno de *Dracontium spruceanum*, la otra muestra que también pasó la prueba de correlación, se obtuvo la ecuación lineal  $y = 65.3 + 0.2436 x$  con un  $R^2$  de 0.863.

## CONCLUSIONES

1. Los extractos metanólicos de *Buddleja incana* presentan entre otros metabolitos flavonoides, esteroides, saponinas y leucoantocianidinas; en el caso de *Piper aduncum* se puede evidenciar la presencia de flavonoides, esteroides, saponinas y lactonas; finalmente en las hojas y cormo de *Dracontium spruceanum* se detecta la presencia de esteroides, flavonoides y saponinas en pequeña cantidad.
2. La actividad antioxidante tanto por el método DPPH• como ABTS•+muestra que las fracciones polares de *Buddleja incana* son las que poseen el mayor poder antioxidante, posiblemente por su contenido en flavonoides; en el caso del *Piper aduncum*, tanto las fracciones polares como apolares mostraron mejor rendimiento antioxidante y finalmente en el caso de las hojas y cormo de *Dracontium spruceanum* las fracciones apolares fueron las que mostraron el mejor efecto antioxidante.
3. La actividad antiinflamatoria determinada por el método de estabilización de membrana en eritrocitos, se mostró como el que ofrece mejor potencia de protección al *Piper aduncum* en todas sus fracciones, y también al cormo de *Dracontium spruceanum* en todas sus fracciones menos la hexánica. Ello puede deberse a la presencia de oxilipinas, que en relación con las tres plantas y el cormo de *Dracontium* mostró los resultados más potentes.
4. La actividad antiproliferativa en función a la citotoxicidad sobre células de cáncer gástrico mostró mayor efectividad en el cormo de *Dracontium spruceanum*, seguido de las hojas de *Buddleja incana* ambas en las fracciones apolares, siendo la hexánica y clorofórmica las más potentes para esta actividad, respectivamente en cada caso; el efecto de estas alcanzó valores de IC<sub>50</sub> de alrededor de 30 µg/mL siendo esta concentración significativa y comparable con quimioterápicos.

5. La correlación existente entre las actividades citotóxica, antioxidante y antiinflamatoria en los extractos metanólico de las tres plantas en estudio y sus fracciones no resultaron significativas en las concentraciones probadas. Sin embargo para la fracción remanente de la *Buddleja incana* se encontró una correlación significativa en la actividad antioxidante y citotoxicidad, pudiendo encontrarse una ecuación lineal entre estas características; por otra parte la fracción hexánica del corno de *Dracontium spruceanum* mostró también una correlación significativa entre la actividad antiinflamatoria y la citotoxicidad, habiéndose encontrado también una ecuación predictiva entre ambas características.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acostupa, F. (2017). Efecto antiinflamatorio *in vitro* de los exttactos etanólicos de cuatro plantas medicinales peruanas. *Rev Perú Med Integrativa*, 2(2), 79-85.
- Aguilar-Rodríguez, S., & Terrazas, T. (2016). Anatomía de la madera de Buddleja L. (Buddlejaceae): análisis fenético. *Madera y Bosques*, 7(2), 63. <https://doi.org/10.21829/myb.2001.721312>
- Ahmad, R., & Salim, F. (2015). Chapter 12 - Oxindole Alkaloids of Uncaria (Rubiaceae, Subfamily Cinchonoideae): A Review on Its Structure, Properties, and Bioactivities. En Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 45, pp. 485-525). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63473-3.00012-5>
- Aquino, N. C. de. (2017). *Aspectos químicos, do estudo químico-farmacológico-agronômico de aroeiras-do-sertão (Myracrodruon urundeuva fr. all), silvestres e cultivadas* (Thesis). Recuperado de <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/29027>
- Arroyo, J., Herrera-Calderón, O., Chávez-Asmat, R., Ventura, E., Buendía, J., Pacheco, J., & Palomino, R. (2014). Efecto antitumoral *in vitro* del aceite esencial de Piper aduncum L. (*Piper aduncum*) y su toxicidad oral en ratones. *Anales de la Facultad de Medicina*, 75(1), 13-18.
- Asociación Española contra el cancer. (2018). Tratamientos contra el cáncer | AECC. Recuperado 17 de julio de 2018, de <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tratamientos>



Ayeleso, A. O., Joseph, J. S., Oguntibeju, O. O., & Mukwevho, E. (2018).

Evaluation of free radical scavenging capacity of methoxy containing-hybrids of thiosemicarbazone-triazole and their influence on glucose transport. *BMC Pharmacology & Toxicology*, 19.

<https://doi.org/10.1186/s40360-018-0266-6>

Bazán, S. A., Ramos, M. G., & Penadillos, R. R. (2014). EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Piper aduncum* EN LA OXIDACIÓN DE LDL HUMANA Y CONCENTRACIÓN EFECTIVA MEDIA PARA LA ESTABILIZACIÓN DE LA ESPECIE RADICALARIA *in vitro*. *PHARMACIENCIA*, 2(2), 88-95.

Benavides, A., Napolitano, A., Bassarello, C., Carbone, V., Gazzero, P.,

Malfitano, A., ... Pizza, C. (2009). Oxylipins from *Dracontium lorentense*. *Journal of Natural Products*, 72(5), 813-817.

<https://doi.org/10.1021/np8006205>

Benavides, A., Napolitano, A., Bassarello, C., Carbone, V., Saggese, P., Piacente, S., & Pizza, C. (2008). *Dracontium lorentense* Engl.: A rich source of novel lipids. *Planta Medica*, 74(9), PC151.

<https://doi.org/10.1055/s-0028-1084669>

Benedí, J., & Romero, C. (2006). Terapia antiinflamatoria tópica. *Farmacia Profesional*, 20(5), 58-63.

Bertram, J. S. (2000). The molecular biology of cancer. *Molecular Aspects of Medicine*, 21(6), 167-223.

Bissinger, R., Modicano, P., Alzoubi, K., Honisch, S., Faggio, C., Abed, M., & Lang, F. (2014). Effect of saponin on erythrocytes. *International*

*Journal of Hematology*, 100(1), 51-59. <https://doi.org/10.1007/s12185-014-1605-z>

Bocanegra, M. (2007). *Estudio preliminar de la composición fitoquímica de extractos de cormos de la especie Jergón Sacha (dracontium lorentense Krause y su variación según su ubicación geográfica* (pregrado). Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto - Perú.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Desmarchelier, C., Repetto, M., Coussio, J., Llesuy, S., & Ciccía, G. (1997). Total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of medicinal plants used in southwest Amazonia (Bolivia and Peru). *International Journal of Pharmacognosy*, 35(4), 288-296.

Devereux, T. R., Risinger, J. I., & Barrett, J. C. (1999). Mutations and altered expression of the human cancer genes: what they tell us about causes. *IARC Scientific Publications*, (146), 19-42.

Díaz, I. E. C., Gonçalves, E. G., & Yoshida, M. (2011). CONSTITUYENTES QUÍMICOS DEL TÚBERO DE. *Rev Soc Quím Perú.*, 10.

Fawzy, G. A., Gamal, A. A. E., & Ati, H. Y. A. (2013). Antimicrobial and cytotoxic potentials of Buddleja polystachya extracts. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 8(2), 136-141. <https://doi.org/10.3329/bjp.v8i2.13844>

- Fernández, A., Arroyo, J., Bonilla, P., Tomás, G., Medina, F., Chenguayen, J., ... Huamán, O. (2007). Efecto antiinflamatorio *in vitro* y seguridad en ratas del extracto acuoso atomizado de la raíz de *Krameria lappacea* (ratania). *Ciencia e Investigación*, 10(2), 1-6.
- Gabbs, M., Leng, S., Devassy, J. G., Monirujjaman, M., & Aukema, H. M. (2015). Advances in Our Understanding of Oxylipins Derived from Dietary PUFAs<sup>12</sup>. *Advances in Nutrition*, 6(5), 513-540.  
<https://doi.org/10.3945/an.114.007732>
- García, E. (2016). Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones de macroalgas de Baja California Sur, México (Posgrado). Instituto Politécnico Nacional, La paz - México.
- García-Heredia, J. M., & Carnero, A. (2017). The cargo protein MAP17 (PDZK1IP1) regulates the immune microenvironment. *Oncotarget*, 8(58), 98580-98597. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21651>
- Gilroy, D. W., Edin, M. L., De Maeyer, R. P. H., Bystrom, J., Newson, J., Lih, F. B., ... Bishop-Bailey, D. (2016). CYP4<sub>50</sub>-derived oxylipins mediate inflammatory resolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(23), E3240-E3249.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1521453113>
- Guamán, B. (2004). *DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE QUISHUAR (Buddleja incana), ALISO (Alnus acuminata) Y ROMERILLO (Hypericum laricifolium) LOCALIZADOS EN 3 ZONAS GEOGRÁFICAS DIFERENTES* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica de Chimborazo, Riobamba - Ecuador. Recuperado de

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3427/1/56T00446.pdf>

Guerrini, A., Sacchetti, G., Rossi, D., Paganetto, G., Muzzoli, M., Andreotti, E., ... Bruni, R. (2009). Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27(1), 39-48.

<https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.08.002>

Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M. Á., Ponce-Pardo, J., & Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH·) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico*, 15(1), 57-60.

Harwood, L., & Moody, C. (1990). *Experimental Organic Chemistry: Principles and Practice*. Estados Unidos: Oxford: Blackwell scientific.

Hermoso, A., Jiménez, I. A., Mamani, Z. A., Bazzocchi, I. L., Piñero, J. E., Ravelo, A. G., & Valladares, B. (2003). Antileishmanial activities of dihydrochalcones from *piper elongatum* and synthetic related compounds. Structural requirements for activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11(18), 3975-3980.

[https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(03\)00406-1](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(03)00406-1)

INEM. (2016). » Datos epidemiológicos Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas [Institucional]. Recuperado 28 de mayo de 2018, de <http://portal.inen.sld.pe/indicadores-anuales-de-gestion-produccion-hospitalaria/>

Jørgensen, K., & Skibsted, L. H. (1993). Carotenoid scavenging of radicals. Effect of carotenoid structure and oxygen partial pressure on

antioxidative activity. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 196(5), 423-429.

Joshi, S., Mishra, D., Bisht, G., & Khetwal, K. S. (2012). Comparative study of essential oil composition of *Buddleja asiatica* and *Buddleja davidii* aerial parts. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 6(1).  
<https://doi.org/10.22377/ijgp.v6i1.232>

Jurado, B. (1993). *Contribución al estudio farmacognóstico de Dracontium lorentense krause (jergón sacha* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.

Kiraly, O., Gong, G., Olipitz, W., Muthupalani, S., & Engelward, B. (2015). Inflammation-Induced Cell Proliferation Potentiates DNA Damage-Induced Mutations In Vivo. *PLoS genetics*, 11, e1004901.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004901>

Klein, G. (2000). [Better understanding of the biology of cancer cells]. *Lakartidningen*, 97(28-29), 3260-3264.

Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y tecnología alimentaria*, 25(4), 726-732.

Li, Y., Ye, J., Chen, Z., Wen, J., Li, F., Su, P., ... Ning, Y. (2017). Annonaceous acetogenins mediated up-regulation of Notch2 exerts growth inhibition in human gastric cancer cells *in vitro*. *Oncotarget*, 8(13), 21140-21152. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15502>

- Lock, O. (1994). *Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales* (2.<sup>a</sup> ed.). Perú: Fondo editorial Universidad Católica del Perú.
- Lovera, A., Bonilla, C., & Hidalgo, J. (2006). Efecto neutralizador del extracto acuoso de *Dracontium lorentense* (JERGÓN SACHA) sobre la actividad letal del veneno de *Bothrops atrox*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 23(3), 177-181.
- Manrique, P. (2017). *Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano y citotóxico del extracto metanólico dracontium lorentense (jergón sachá) sobre cepas de candida albicans (ATCC®10231™), Streptococcus mutans (ATCC®25175™) y Streptococcus sanguinis (ATCC®10556™)* (Bachiller). Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Recuperado de [https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/622864/Manrique\\_HP.pdf;jsessionid=B0192A0605D8C34E80CDB7253C6F8018?sequence=5](https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/622864/Manrique_HP.pdf;jsessionid=B0192A0605D8C34E80CDB7253C6F8018?sequence=5)
- Masuoka, C., Ono, M., Ito, Y., & Nohara, T. (2003). Antioxidative, antihyaluronidase and antityrosinase activities of some constituents from the aerial part of *Piper elongatum* VAHL. *Food Science and Technology Research*, 9(2), 197-201. <https://doi.org/10.3136/fstr.9.197>
- Masuoka, Chikako, Ono, M., Ito, Y., Okawa, M., & Nohara, T. (2002). New megastigmane glycoside and aromadendrane derivative from the aerial part of *Piper elongatum*. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 50(10), 1413-1415.

- Meira, L. B., Bugni, J. M., Green, S. L., Lee, C.-W., Pang, B., Borenshtein, D., ... Samson, L. D. (2008). DNA damage induced by chronic inflammation contributes to colon carcinogenesis in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(7), 2516-2525.  
<https://doi.org/10.1172/JCI35073>
- Mejía, K. (2000). *Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana* (2°). Iquitos-Perú: AGENCIA ESPAÑOLA DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL (AECI) y el INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONÍA PERUANA (IIAP).  
Recuperado de  
[http://repositorio.iiap.org.pe/bitstream/IIAP/74/2/Mejia\\_libro\\_2000.pdf](http://repositorio.iiap.org.pe/bitstream/IIAP/74/2/Mejia_libro_2000.pdf)
- Meneses-Reyes, J. C., Soto-Hernández, R. M., Espinosa-Solares, T., & Ramírez-Guzmán, M. E. (2008). Optimización del proceso de extracción de flavonoides de flor de manzanilla (*Matricaria recutita* L.). *Agrociencia*, 42(4), 425-433.
- Monroy, C. M., Cortés, A. C., Sicard, D. M., & De Restrepo, H. G. (2005). Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas *in vitro* a glifosato. *Biomédica*, 25(3), 335.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i3.1358>
- Núñez, C. (2008). *Comentarios sobre Solventes y Solubilidades de Sustancias orgánicas*. Texto libre, Argentina. Recuperado de  
<http://www.cenunez.com.ar/archivos/51-Comentariosobresolventesysolubilidades.pdf>
- Pardo, D. A. V. (2009). Evaluación de la actividad cicatricante, 2(1), 77.

- Pendota, S. C., Ndhlala, A. R., Aremu, A. O., Aderogba, M. A., & Van Staden, J. (2014). Anti-inflammatory, antioxidant and in silico studies of *Buddleja salviifolia* (L). Lam leaf constituents. *South African Journal of Botany*, 93, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.03.012>
- Pérez, M., & Inés, C. (2016). Capacidad antioxidante y efecto inmunomodulador del extracto etanólico del rizoma de *dracontium spruceanum* schott (jergón sachá) en pollos parrilleros de la línea cobb 500 en tingo maría. *Repositorio Institucional - UNAS*. Recuperado de <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1081>
- Rakoff-Nahoum, S. (2006). Why Cancer and Inflammation? *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 79(3-4), 123-130.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS•+ radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Riss, T. L., & Moravec, R. A. (2004). Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. *Assay and Drug Development Technologies*, 2(1), 51-62. <https://doi.org/10.1089/154065804322966315>
- Riss, T., Moravec, R., Niles, A., Duellman, sarah, Benink, H., Worzella, T., & Minor, L. (2016). Ensayos de viabilidad celular. En *Manual de Orientación de Ensayos*. Estados Unidos: Ely lily.



- Rodriguez, O., Andrade, W., & Diaz, F. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). *Revista de tecnología*, 14(2), 21-36.
- Rondina, R., & Palacios, P. (1991). Fraccionamiento de Extractos Vegetales por Extracción Líquido/Sólido Utilizando un Soporte Diatomáceo Inerte. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 10(1), 49-53.
- Sahidin, Nohong, Sani, A., Anggrenimanggau, M., Sukohar, A., Widodo, H., & Baharum, S. N. (2014). Radical scavenging activity of triterpene steroids from stem of *Polygonum pulchrum* Bl. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8), 350-354.
- Suwalsky, M., Duguet, J., & Speisky, H. (2017). An *In Vitro* Study of the Antioxidant and Antihemolytic Properties of *Buddleja globosa* (*Piper aduncum*). *The Journal of Membrane Biology*, 250(3), 239-248.  
<https://doi.org/10.1007/s00232-017-9955-0>
- Tai, B. H., Cuong, N. M., Nhiem, N. X., Tung, N. H., Quang, T. H., & Kim, Y. H. (2011). Buddlejasaponins from the flowers of *Buddleja officinalis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(3), 467.  
<https://doi.org/10.1007/s10600-011-9967-4>
- Torres-Román, J. S., & Grados-Sánchez, O. (2015). Cáncer gástrico en el Perú: una realidad susceptible de cambio. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 35(3), 276-276.
- Treml, J., & Šmejkal, K. (2016). Flavonoids as Potent Scavengers of Hydroxyl Radicals: Flavonoids versus hydroxyl radical.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 720-738. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12204>

- Tundis, R., Xiao, J., & Loizzo, M. R. (2017). *Annona* species (Annonaceae): a rich source of potential antitumor agents? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1398(1), 30-36.  
<https://doi.org/10.1111/nyas.13339>
- Vásquez, M. R. S. (2015). Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. *In Crescendo*, 6(1), 105-116.
- Yang, R., Li, W., Hu, W., Huang, W., Zhu, C., Yu, J., ... Gao, N. (2015). Anticancer effect of total annonaceous acetogenins on hepatocarcinoma. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 21(9), 682-688. <https://doi.org/10.1007/s11655-014-1845-z>
- Ying, C., & Wan, D. (2012). Quantitative determination of total and individual flavonoids in stems and leaves of *Buddleja davidii* and *Buddleja albiflora*. *Pharmacognosy Magazine*, 8(32), 273-279.  
<https://doi.org/10.4103/0973-1296.103651>

## ANEXOS

### Anexo I: Constancia de identificación taxonómica de la *Buddleja incana*



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

#### C O N S T A N C I A N° 192-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo, hojas, flores) recibida de **La Universidad Científica del Sur S.A.C**; ha sido estudiada y clasificada como: *Buddleja incana* Ruiz & Pav. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: SCROPHULARIALES**

**FAMILIA: BUDDLEJACEAE**

**GENERO: *Buddleja***

**ESPECIE: *Buddleja incana* Ruiz & Pav.**

Nombre vulgar: "Quishuar"

Determinado por: Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime conveniente.

Lima, 21 mayo de 2018



*Asunción A. Cano Echevarría*

**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:  
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: [museohn@unmsm.edu.pe](mailto:museohn@unmsm.edu.pe)  
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

## Anexo II: Constancia de identificación taxonómica del *Piper aduncum*



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

### CONSTANCIA N° 191-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama estéril), recibida de la Universidad Científica del Sur S.A.C; ha sido estudiada y clasificada como: *Piper aduncum* L., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: MAGNOLLIDAE**

**ORDEN: PIPERALES**

**FAMILIA: PIPERACEAE**

**GENERO: *Piper***

**ESPECIE: *Piper aduncum* L.**

Nombre vulgar: "matico".

Determinado por: Blgo. José Campos De La Cruz

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 22 de mayo de 2018



*Asunción A. Cano Echevarría*  
**Mag. Asunción A. Cano Echevarría**  
 JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

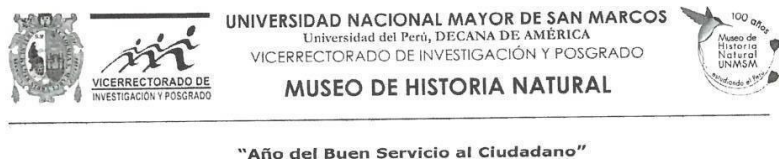
ACE/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María  
 Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:  
 619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: [museohn@unmsm.edu.pe](mailto:museohn@unmsm.edu.pe)  
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

### Anexo III: Constancia de identificación taxonómica del *Dracontium spruceanum*



#### CONSTANCIA N° 190-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rizoma y hojas), recibida de UNIVERSIDAD CIENTIFICA DEL SUR S.A.C., ha sido estudiada y clasificada como: *Dracontium aff. spruceanum* (Schott) G.H. Zhu, tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION:** MAGNOLIOPHYTA

**CLASE:** LILIOPSIDA

**SUB CLASE:** ARECIDAE

**ORDEN:** ARALES

**FAMILIA:** ARACEAE

**GENERO:** *Dracontium*

**ESPECIE:** *Dracontium aff. spruceanum* (Schott) G.H. Zhu

Nombre vulgar: "Jergon sachá"

Determinada por: Blgo. José Campos de la Cruz

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 30 de mayo de 2018



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:  
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: [museohm@unmsm.edu.pe](mailto:museohm@unmsm.edu.pe)  
<http://museohm.unmsm.edu.pe>